

Eny Maria Goloni Bertollo

**Estudo Citogenético em Profissionais
Expostos a Agentes Antineoplásicos**



ENY MARIA GOLONI BERTOLLO

ESTUDO CITOGENÉTICO EM PROFISSIONAIS EXPOSTOS

A AGENTES ANTINEOPLASICOS

Dissertação apresentada ao
Curso de Pós-graduação em Ciên-
cias Biológicas, Área de Con-
centração em Genética, do Ins-
tituto de Biociências, Letras e
Ciências Exatas da Universidade
Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho", para a obten-
ção do grau de Mestre em Gené-
tica.



T-447/90

SÃO JOSE DO RIO PRETO - SP

1990

t576.3:575
B546e



Este trabalho foi realizado no Laboratório de Citogenética Humana e Animal, do Departamento de Biologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto, SP, com o auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Bolsa de Mestrado).

ORIENTADOR: Profa. Dra. Marileila Varella-Garcia

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Citogenética Humana e Animal, do Departamento de Biologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto, SP, com o auxílio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Bolsa de Mestrado).

AGRADECIMENTOS

Às láminas desta Probalho, agradeço a todos que incentivaram e colaboraram direta ou indiretamente para sua concretização.

À Prof.ª Dra. Marileila Varela Garcia, orientadora e amiga, agradeço a paciência e dedicação, a qual deu toda minha experiência científica.

À Jesus Bertollo, companheiro e amigo, que sempre me incentivou a concluir este trabalho.

Às Prof.ªs. Dras. Iris Ferrari e Nivea Dulce Tedeschi Conforti Froes, pela carinho, atenção e por todas as valiosas sugestões durante a análise da pró-forma, e a Prof.ª Dra. Eliza Talar, pela orientação e pelas contribuições na revisão deste trabalho.

À Prof.ª Ana Maria José, do Departamento de Análise Química e Estatística desta Instituição, pela assistência estatística.

À pós-graduada Marcela Ferreira Laureano, pela carinho e disponibilidade na execução de serviços de edição do texto.

À Prof.ª Dr.ª Jussara Estevan, pela revisão do Sumário.

Às funcionárias e amigos, Josué Rodrigues dos Santos, pela auxílio na parte experimental, tanto de modo teórico quanto prático, e à Rosana Silvestre de Souza, pela auxílio técnico-laboratorial.

Dedico este trabalho

**A Jesus Bertollo, companheiro
imprescindível.**

**A meus pais, Pedro e Terezina,
que tudo fizeram por mim.**

**A meus irmãos Elder, Elvis, Elmer
e Esli, meus melhores amigos.**

"Cada objetivo deve trazer dentro de si a semente da ação."

Constantin Stanislavsky



AGRADECIMENTOS

Ao término deste trabalho, agradeço a todos que incentivaram e colaboraram direta ou indiretamente para sua concretização.

À Profa. Dra. Marileila Varella Garcia, orientadora e amiga, modelo de pesquisador por sua capacidade e dedicação, a qual devo toda minha experiência científica.

Ao Jesus Bertollo, companheiro e amigo, que sempre me incentivou e colaborou na realização deste trabalho.

As Profas. Dras. Iris Ferrari e Nívea Dulce Tedeschi Conforti Froes, pelo carinho, atenção e por todas as valiosas sugestões durante a análise da pro forma, e a Profa. Dra. Eloíza Tajara, pela orientação e pelas contribuições na revisão deste trabalho.

Ao Prof. Antonio José Manzato, do Departamento de Análise Numérica e Estatística deste Instituto, pela assessoria estatística.

Ao pós-graduando Marcelo Ferreira Lourenço, pelo carinho e disponibilidade na execução de serviços de edição do texto.

Ao Prof. Dr. James Coleman, pela revisão do Summary.

Ao funcionário e amigo, Josué Rodrigues dos Santos, pelo auxílio na parte experimental, tanto de cultura de células como nas fotografias, e à Rosana Silistino de Souza, pelo auxílio técnico-laboratorial.

À Diretoria Clínica e à Chefia de Enfermagem dos Hospitais e às pessoas que doaram o sangue para este estudo, pela colaboração imprescindível.

Ao biólogo Sidnei Olivio e à Sra. Luiza Cirelli pela amizade e pela dedicação com que mantiveram as boas condições de funcionamento do Centro de Microscopia, o que garantiram o bom andamento das análises microscópicas efetuadas neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Wladimir João Taddei, Coordenador do Curso de Pós-Graduação, e aos docentes desse curso, que sempre nos acompanharam com empenho e dedicação, buscando condições cada vez melhores para a pós-graduação.

As Profas. Ana Elizabeth Silva, Eliana Morieli Versute, Elza Midori Hashimoto e ao Prof. Edson Guilherme Vieira, pela amizade e cooperação nos momentos difíceis.

À Profa. Agnes Fett Conte, pelo apoio e confiança.

Ao Prof. Dr. Valdir Antonio Tadei, pelo incentivo e atenção com que sempre fui recebida.

Aos pós-graduandos e às companheiras de laboratório, Nilce Barril Gama e Rosa S. Kawasaki Oyama, sempre dispostas a colaborar.

As Profas. Dras. Maria Astride Saad Corradi, Maria Terci-
lia V. Azeredo de Oliveira, Adelina Buzini Costa Silva, Ana Maria
Alves de Oliveira e Telma Galvão Catib, pelo apoio e incentivo no
meu ingresso neste curso de pós-graduação.

Aos Profs. Drs. Celso Abbade Mourão, Aluisio José Gallo,
e à Profa. Dra. Hermione E. M. de C. Bicudo, pela dedicação à
ciência e preocupação de acompanhar-nos durante o curso de pós-
graduação.

A Yone Sass Dias e à Simone Carvalho, funcionárias dedi-
cadas e solícitas e aos demais funcionários deste estabelecimento,
por manterem boas condições de trabalho.

As bibliotecárias, pela presteza nos serviços de comuta-
ção bibliográfica.

Aos meus pais, pelo amor e pela educação que me propicia-
ram.

Aos meus irmãos e à minha cunhada Natalina, pelo carinho.

A minha avó Cezira, aos meus tios Antônio e Enedina e aos
meus primos, pela acolhida e pelo carinho com que me receberam.

A Direção do Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas, pela disposição das condições materiais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

A Deus, por tudo.

A TODOS,

A MINHA GRATIDÃO.

INDICE

I. INTRODUÇÃO

I.1. Agentes antineoplásicos: molécula alvo e natureza da ação	1
A. Agentes que atuam sobre DNA, RNA e proteínas	3
B. Agentes inibidores dos precursores dos ácidos nucleicos	6
C. Agentes que atuam sobre o aparelho mitótico	8
I.2. Efeitos tóxicos dos antineoplásicos	9
I.3. Efeitos dos antineoplásicos em cromossomos	12
I.4. Exposição ocupacional	21
I.5. Objetivos	24

II. MATERIAL E METODOS

II.1. Caracterização das amostras estudadas	25
II.2. Cultura de linfócitos	30
II.3. Estudo citogenético	32
II.4. Análise estatística	34

III. RESULTADOS

III.1. Anomalias cromossômicas	36
III.2. Troca entre cromátides-irmãs	51

IV. DISCUSSÃO.....

64

V. RESUMO E CONCLUSOES.....

91

VI. SUMMARY.....

95

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....

98

I. INTRODUÇÃO

I.1. Agentes antineoplásicos: molécula-alvo e natureza da ação.

Os oncologistas do início da década de 60 acreditavam que a cura do câncer seria conseguida por agentes não-tóxicos, mas as tentativas nesse sentido não obtiveram sucesso. A terapia através de agentes químicos tem sido um método de tratamento eficaz, apesar de todos os problemas a ela relacionados (SOKOLOFF, 1977).

Os agentes químicos usados no tratamento do câncer são usualmente designados antineoplásicos e inibem o crescimento celular por atuarem sobre as moléculas que controlam os processos de divisão e desenvolvimento. O emprego dos antineoplásicos é proposto com base na elevada taxa mitótica das células cancerosas. No entanto, eles também atacam os tecidos normais que se dividem mais rapidamente, como as células do tecido hematopoiético, das mucosas internas, da mucosa oral, dos folículos capilares e da pele, sendo, por isso, tóxicos e até letais para os pacientes, dependendo das condições em que são utilizados. Devido ao modo peculiar de atuação, os agentes antineoplásicos são também chamados citotóxicos, citostáticos, antiblásticos, oncolíticos, carcinostáticos ou antimitóticos.

A terapia moderna do câncer se desenvolve, cada vez mais, com protocolos combinados, às vezes em associação também com outros métodos, como radioterapia e imunoterapia. As associações de diferentes agentes antineoplásicos visam a obter o sinergismo terapêutico que, segundo HOLLAND & FREI (1982), geralmente proporciona resultados melhores que a monoterapia, com redução dos efeitos tóxicos, aumento da ação antineoplásica e retardamento do

início da resistência à droga.

Para que o antineoplásico exerça sua função terapêutica, ele deverá ligar-se, no tecido afetado, a uma molécula receptora: o DNA, o RNA ou as proteínas. Algumas dessas ligações são facilmente dissociáveis, principalmente as que resultam de atração eletrostática, como pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas, ligações éster e amidas. Os compostos que se ligam reversivelmente são letais somente para células que estão em intensa atividade metabólica. Entre eles destacam-se os antimetabólitos, que são drogas de eleição em leucemias, afecções nas quais a grande maioria das células apresenta-se em fase logarítmica de divisão. Quando as ligações ficam retidas no tecido-alvo tem-se uma situação irreversível, na qual há o aumento da probabilidade de ocorrência de lesões. Nesse caso, a exposição a doses baixas, por longos períodos de tempo, tende a ser tão tóxica quanto a mesma dose total em curto período de tempo. Os compostos que se ligam de forma irreversível são letais, independentemente da fase em que as células estiverem por ocasião de seu contato. É o caso, por exemplo, dos agentes alquilantes, usados com frequência contra tumores sólidos, cujas células estão preponderantemente na fase estacionária (KOROLKOVAS & BURCKHAETER, 1982).

De acordo com a molécula-alvo e a natureza da ação exercida ao nível dos componentes celulares, CROOKE (1979) agrupou os antineoplásicos como segue.



A. Agentes que atuam sobre DNA, RNA e proteínas.

O DNA é, sem dúvida, um dos constituintes celulares de maior importância, e muitos agentes citotóxicos interagem com ele, tendo como consequência a sua degradação ou modificações que interferem em suas funções celulares, como as decorrentes das reações de alquilação e intercalação.

Os compostos degradantes, como a bleomicina e seus análogos (talismicina, fleomicina) e a macromicina, produzem quebras uni e bicatenárias no DNA, provavelmente em decorrência da ligação com íons ferrosos, o que facilita sua oxidação e gera radicais livres que podem ser compostos genotóxicos (CROOKE, 1977).

Os agentes alquilantes são compostos eletrofílicos altamente reativos, capazes de introduzir radicais alquilas ou metilas nos átomos nucleófilos de oxigênio, nitrogênio ou enxofre de nucleotídeos ou proteínas. A alquilação do DNA leva a um pareamento errôneo, que se manifesta como uma mutação após a duplicação da molécula original e interfere, desse modo, na transcrição. Todo o metabolismo de síntese protéica e o metabolismo energético celular são comprometidos. Altas doses de alquilantes são capazes de lesar as células em quaisquer das etapas do ciclo celular (KOROLKOVAS & BURCKHAETER, 1982). DOEJER *et al.* (1984) evidenciaram a ocorrência de vários sítios sensíveis à alquilação do DNA, como o N1, o N3 e o O6 da guanina e o N3 da citosina. Mas o sítio preferencial de atuação dos alquilantes é a posição N7 da guanina (SHEPHERD & SAGE, 1986). Quando o agente se liga a esse sítio, ocorre a desestabilização da ligação glicosídica do N7 da pentose, causando a perda da base, ou seja, a despurinação. Isto pode provocar a ruptura

da cadeia do DNA, a substituição da guanina por qualquer uma das outras bases, levando a um pareamento errôneo ou, ainda, à ligação entre guaninas próximas, produzindo ligações cruzadas que impedem a duplicação do DNA (CARTER *et al.*, 1981).

Os alquilantes mais usados terapeuticamente são ciclofosfamida, procarbazona, mitomicina C, clorambucil, bussulfam, melfalam, tiotepa e cis-platina. Embora existam agentes alquilantes mono, bi e trifuncionais, a maior atividade antineoplásica encontra-se entre os bifuncionais, que contêm dois centros ativos separados por uma distância ótima. A ciclofosfamida, por exemplo, é um alquilante bifuncional e reage, preferencialmente, com a guanina na posição N7 (KRIEK *et al.*, 1984). Ela é metabolizada por enzimas microssômicas formando um intermediário, a 4-hidroxi-ciclofosfamida, e seu tautômero, a aldofosfamida, este último convertido em um derivado não-tóxico, a carboxifosfamida, e em derivados tóxicos, a mostarda fosforamida e a mostarda nitrogenada (MOHN & ELLENBERGER, 1976).

A mitomicina C e a porfiromicina, antibióticos alquilantes, devem sua ação às ligações cruzadas entre as cadeias complementares do DNA. Isso é possibilitado por uma pré-ativação *in vivo*, com redução de seu anel quinônico e perda do grupo metóxi terciário. Em consequência, os antibióticos adquirem formas protonizadas ativas capazes de atuarem como agentes alquilantes bifuncionais, tendo uma cadeia de quatro átomos de carbono separando os centros ativos. Segundo BROGGER & JOHANSEN (1972), a mitomicina pode reagir com o DNA monofuncionalmente, ligando-se a uma das cadeias do DNA, ou bifuncionalmente, através de ligações cruzadas.

BEGLEITER (1986) concluiu que a indução de quebras bicatenárias por antibióticos quinônicos está diretamente relacionada à grande capacidade desses agentes de se ligarem ao DNA, aumentando acentuadamente a citotoxicidade.

Outro mecanismo pelo qual as drogas afetam o DNA é a intercalação, que consiste na introdução de compostos que se assemelham a uma base nitrogenada normal. Por ocasião da duplicação, uma outra base parecia-se com a erroneamente introduzida, levando a inserção de um nucleotídeo extra na molécula-filha. Como exemplo de intercalantes tem-se a actinomicina-D, a adriamicina, a daunomicina, a mitramicina e a bleomicina. Há indicações de que eles se intercalam preferencialmente em regiões ricas em determinadas bases nitrogenadas. Alguns, como as actinomicinas, ligam-se a regiões guanina-citosina e outros, como a daunomicina, as antraciclinas e a distamicina-A, ligam-se a regiões adenina-timina (ZIMMER *et al.*, 1971; PRANTERA *et al.*, 1979; CROOKE, 1979; SCHIMID *et al.*, 1980; XODO *et al.*, 1988). A intercalação das antraciclinas, como a daunorrubicina, doxorrubicina e a distamicina-A, ocorre através dos seus cromóforos, possivelmente por mecanismo de transferência de energia. Os resíduos glicídicos presentes nos cromóforos desses antibióticos favorecem o estabelecimento de ligações, por estabilizarem os complexos formados pelas interações hidrofóbicas ou eletrostáticas e pelas pontes de hidrogênio (PRANTERA *et al.*, 1979).

Diversos agentes degradantes, intercalantes e antimetabólitos exercem efeito também sobre as proteínas nucleares. A principal dessas proteínas é a DNA polimerase, cuja síntese pode ser inibida pela aractinomicina-C e pelas antraciclinas (JAMRA & LORENZI, 1983), assim como pela bleomicina (CROOKE, 1979). Em



consequência, há a diminuição da incorporação de precursores necessários para a síntese de ácidos nucleicos, sendo afetadas tanto as etapas de duplicação do DNA como de síntese de reparo.

A ação dos agentes antineoplásicos sobre o RNA pode ocorrer por inibição de sua síntese ou de seu processamento. A actinomicina-D, por exemplo, inibe a síntese de RNA e, em baixas concentrações, inibe seletivamente a síntese do RNA nucleolar, do mesmo modo que as antraciclinas e a proflavina. A elipticina, o brometo de etídio e a proflavina inibem o processamento do pré-RNA ribossômico, impedindo a conversão do RNA 45S em RNA 32S (KOHN et al., 1975; CROOKE, 1979).

B. Agentes inibidores dos precursores dos ácidos nucleicos.

Estes agentes podem ser antagonistas de purinas, de pirimidinas ou do ácido fólico e são também designados antimetabólitos.

Os antagonistas de purinas mais conhecidos são a mercaptopurina e a tioguanina, que se tornam ativas após a conversão a nucleotídeos. A mercaptopurina adquire atividade após sua conversão a ácido 6-tioinosínico, interferindo em muitos processos metabólicos vitais das células em crescimento e em mitose. A tioguanina, um potente inibidor da síntese **de novo** de nucleotídeos purínicos, possui mecanismo semelhante ao da mercaptopurina e só se torna ativa após sua conversão a ácido 6-tioguanílico. A substituição da guanina por polinucleotídeos alterados é responsável pelo efeito inibidor de síntese do DNA provocado pelo ácido 6-

tioguanílico (KOROLKOVAS & BURCKHAETER, 1982). Uma característica interessante desses dois compostos é que ambos são catabolizados pela xantina oxidase a ácido tioúrico, um metabólito que não é carcinostático. Como muitas células cancerosas são mais pobres em xantina oxidase do que as células normais, isso favorece a atuação seletiva dos compostos sobre as células tumorais.

A ação dos antagonistas das pirimidinas é devida a seus produtos metabólicos, que interferem nas primeiras fases da síntese do DNA e levam à substituição do ácido timidílico, e consequente morte por carência de timina. Os mais usados são a fluorouracila, a bromouracila, a azauridina e a aractinomicina-C (KOROLKOVAS & BURCKHAETER, 1982). A fluorouracila e a fluorouridina tornam-se ativas após serem convertidas a ácido 5-fluor-2-desoxiuridílico. Este pode exercer sua atividade por três mecanismos: por inibição da enzima timidilato sintetase, que atua na formação da timina, pela incorporação ao RNA como análogo da timina, e pela inibição da uracila disponível por bloqueio da uracila fósfatase. A bromouracila e a iodouracila tornam-se ativas após degradação a derivados 2-desoxiuridílicos, cuja atividade antineoplásica é atribuída à sua incorporação no DNA em lugar da timina.

A azauridina deve sua ação ao seu metabólito, o ácido 6-azauridílico, um inibidor competitivo da orotato fosforribosil tranferase, enzima que cataliza a conversão de ácido orotidílico a ácido uridílico e, assim, bloqueia a síntese das pirimidinas.

Os antagonistas do ácido fólico reduzem a quantidade do tetraidrofolato intracelular necessário para a síntese da timina e das purinas, havendo então, uma especificidade de ação do agente para a fase S do ciclo celular. Os principais antagonistas do ácido

fólico são o metotrexato, a metasquina e a aminopterina, que atuam por inibição da redutase do diidrofolato, impedindo a conversão do diidrofolato em tetraidrofolato (KAMEN, 1986). Eles ligam-se à enzima muito mais fortemente do que o próprio substrato. O efeito anticancerígeno primário do metotrexato é atribuído à inibição da síntese do timidilato, indiretamente por inibição da síntese da coenzima do tetraidrofolato, ou diretamente por inibição competitiva da síntese do ácido timidílico (KOROLKOVAS & BURCKHAETER, 1982).

C. Agentes que atuam sobre o aparelho mitótico.

A colquicina, a vincristina, a vindesina, a vimblastina e a podofilotoxina estão entre os agentes que inibem a mitose por rompimento do aparelho mitótico. Cada um deles liga-se, geralmente de modo reversível, às estruturas que participam da formação do fuso mitótico resultando na sua dissolução. A colquicina liga-se fortemente aos monômeros da tubulina promovendo a sua despolimerização e, assim, impedindo o alinhamento dos cromossomos no fuso e o movimento dos cromossomos-filhos para os polos opostos da célula na anáfase (CROOKE, 1979). Ela é também responsável pela inibição de quiasmas e do pareamento dos cromossomos homólogos (THOMAS & KALTSIKES, 1977). A vincristina e a vindesina inibem a mitose devido à sua ação sobre os microtúbulos, o que leva à morte celular. A eliminação desses compostos pelas células é lenta e doses, mesmo que pequenas, permanecem na circulação por longo tempo,

atingem o sistema nervoso e provocam neurotoxicidade (JAMRA & LORENZI, 1983).

1.2. Toxicidade dos antineoplásicos.

Os antineoplásicos exercem efeitos na fertilidade e no desenvolvimento fetal. Eles costumam levar à insuficiência gonadal, na mulher causando amenorréia e níveis baixos de estrógenos, e no homem levando a azoospermia, oligospermia ou aspermia definitiva (BENDER & YOUNG, 1978; SCHILSKY et al., 1980; JAMRA & LORENZI, 1983). A fertilidade de indivíduos submetidos a quimioterapia na infância ou adolescência foi avaliada, por exemplo, por BYRNE et al. (1987), que compararam 2283 pacientes com 3270 indivíduos de suas irmandades, que foram os controles. Entre os homens submetidos a agentes alquilantes, houve um déficit de 60% na fertilidade, e entre as mulheres não houve efeito significativo dessa terapia, que entretanto, quando associada com radioterapia, resultou em um déficit de 81% na fertilidade.

Há poucas informações sobre problemas no desenvolvimento da progênie de indivíduos submetidos terapêutica ou ocupacionalmente aos quimioterápicos e os resultados são controversos. ROSS (1976) não encontrou aumento nas frequências de anomalias fetais em 106 mulheres que receberam quimioterapia para neoplasma trofoblástico gestacional. Resultados negativos também foram relatados por GILLILLAND & WEINSTEIN (1983), em revisão de literatura sobre perda fetal associada ao uso de antineoplásicos. Por outro lado, a exposição ocupacional a antineoplásicos foi associada com perda

fetal por SELEVAN *et al.* (1985) e por KALTER (1986) em enfermeiras, e com malformações na progênie por HEMMINKI *et al.* (1985). Casos esporádicos de cromossomopatias e malformações foram referidas na progênie de pacientes submetidos a monoterapia com bussulfam (BHISEY *et al.*, 1982) e a terapia com diversos agentes combinados, como aractinomicina-C, daunorrubicina tioguanina e ciclofosfamida (RUSSEL & POWLES, 1976); doxorrubicina, mecloretamina, ciclofosfamida, 5-fluorouracila, vincristina e procarbazina (KALTER, 1986); daunomicina, vincristina, predmustina, L-asparaginase, ciclofosfamida, aractinomicina-C, mercaptopurina e metotrexato (SCHLEUNING & CLEMM, 1987).

Com base em informações como estas, a utilização de antineoplásicos não é recomendada durante o primeiro trimestre de gravidez e a terapia com qualquer agente deve ser minimizada ao máximo nesse período (GILLILLAND & WEINSTEIN, 1983).

Os antineoplásicos causam diversos efeitos tóxicos observados clinicamente. A náusea e o vômito são os efeitos mais comumente relacionados à quimioterapia (SCOGNA & SMALLEY, 1979), mas muitos outros problemas têm sido relatados, com frequência cada vez maior. Os antineoplásicos têm se revelado cardiotoxicos em experimentos com animais (ROBISON & GIRI, 1987; STEPHENS *et al.*, 1987) e em pacientes submetidos a terapia (PRAGA *et al.*, 1980), e têm manifestado toxicidade nos mais diferentes níveis, como pulmonar (FORTUNY & THEOLOGIDES, 1974; WILLSON, 1978; MULLER *et al.*, 1979; RUCCIONE & WEINBERG, 1989; TALCOTT *et al.*, 1989), vascular (JOSELSON & WARNOCK, 1983; DOLL *et al.*, 1986; SAMUELS *et al.*, 1987; RUCCIONE & WEINBERG, 1989), hepático (SZNOL *et al.*, 1987),

pancreático (NEWMAN & ELLIS, 1979) e oftalmológico (URBA & FORASTIERE, 1988). Alterações nos dentes, em estudos experimentais em ratos (PAJARI, 1989) e em pacientes (ADATIA, 1987; MACLEOD et al., 1987), hipoglicemia fatal (WALDEN et al., 1979), acidentes neurológicos graves (CORBERAND et al., 1983; PETERSON & POPKIN, 1980), alterações morfológicas e bioquímicas na cartilagem articular humana (MARTEL-PELLETIER & PELLETIER, 1986), alopecia, hiperpigmentação e reações cutâneas decorrentes da redução na resistência natural a infecções (LEVANTINE & ALMEYDA, 1974), são outros efeitos tóxicos relacionados a esses agentes. Em consequência da excreção dos metabólitos tóxicos, muitos antineoplásicos têm se revelado também nefrotóxicos (GOREN et al., 1986; RIES & KLASTERSKY, 1986; WANG et al., 1987; MULDER et al., 1988; VERWEIJ et al., 1988; REED & JACOB, 1989).

Em adição, o extravasamento de aplicações de antineoplásicos em pacientes pode causar lesões locais sérias, inclusive a necrose do tecido e infecções fatais (SEYFER & SOLIMANDO, 1983; COX et al., 1988).

A carcinogenicidade dos antineoplásicos já foi comprovada em estudos experimentais em animais (STONER et al., 1973; YAMAMOTO et al., 1973; BERGER et al., 1986; 1988; BABAYÄ et al., 1987) e em pacientes submetidos a terapia (SCHMAHL, 1977; GEARY, 1980; SCHMAHL et al., 1982; ABE & MISAWA, 1985; LAMBERT & HOLMBERG, 1986; SERRES & MATSUSHIMA, 1986; BAGLIN et al., 1987; NEMOTO et al., 1987; VALAGUSSA et al., 1987; GENUARDI et al., 1988). Desses e de outros estudos concluiu-se que os agentes alquilantes são os carcinogênicos mais ativos, que em terapia simples ou combinada, e que o câncer secundário, mais frequentemente



associado à quimioterapia, é a leucemia não-linfocítica aguda (S-ANLL), tanto quando os eventos eram linfomas malignos como quando eram tumores sólidos. Estudos em pacientes com S-ANLL revelaram que a anormalidade citogenética mais comum é a monossomia dos cromossomos 5 e 7, que está fortemente associada com a quimioterapia em, pelo menos, 85% dos casos (BENITEZ et al., 1986; HEIM & MITELMAN, 1987; ZACCARIA et al., 1987; PHILIP & PEDERSEN-BJERGARD, 1988).

A carcinogenicidade dos antineoplásicos pode estar relacionada com os padrões de metabolismo desses agentes nos diversos tecidos do organismo. HOWELL et al. (1986), por exemplo, evidenciaram que, em ratos Sprague-Dawley, as células epiteliais mamárias eram menos capazes de metabolizar daunorrubicina do que os hepatócitos, e encontraram grande número de animais com adenocarcinoma mamário após uso de tal agente.

1.3. Efeitos dos antineoplásicos em cromossomos.

Os efeitos dos antineoplásicos sobre os cromossomos têm sido objeto de estudo desde a década de 60. Tais investigações abrangeram análises de diversos parâmetros em sistemas *in vitro* e *in vivo*, e o parâmetro mais comumente analisado foi a frequência de aberrações cromossômicas estruturais, incluindo diferentes tipos de quebras e falhas e de outros fenômenos mais complexos, como translocações e deficiências cromossômicas. Nos últimos anos, tornou-se também comum a análise das frequências das trocas entre

cromátides-irmãs (TCI).

As Tabelas 1, 2 e 3 resumem os agentes antineoplásicos, com diferentes mecanismos de ação, que induziram fenômenos citogenéticos em vários tipos celulares de diversos organismos tratados *in vitro*. A Tabela 1 refere-se ao degradante bleomicina, a Tabela 2 aos alquilantes e a Tabela 3 aos agentes com outros mecanismos de ação. De forma similar, a Tabela 4 apresenta os efeitos mutagênicos observados em células de animais tratados *in vivo* com diferentes agentes antineoplásicos.

Os linfócitos do sangue periférico foram as células mais frequentemente analisadas, devido à facilidade de cultivo e estudo. As células de ovário de hamster chinês foram também muito utilizadas em estudos *in vitro*, e as mais estudadas *in vivo* foram as células da medula óssea de camundongos, hamsters e ratos.

A bleomicina foi o único antineoplásico degradante cujos efeitos foram avaliados *in vitro* ou *in vivo*, provavelmente devido ao uso terapêutico mais restrito dos agentes dessa categoria. Ela é eficaz como indutora de aberrações cromossômicas mas, quanto às TCI, as conclusões não parecem ser ainda seguras, pois foram analisadas apenas por BANERJEE & BENEDICT (1979), tendo sido encontradas em frequências aumentadas.

Os alquilantes mitomicina-C, ciclofosfamida e cisplatina, amplamente usados em vários protocolos contra o câncer, mostraram-se eficazes indutores de aberrações cromossômicas e de TCI em estudos *in vitro* e *in vivo*. Os antineoplásicos de segunda geração, como a cis-diaminodicloroplatina, o complexo platina etilmalonato, a espiroplatina, a carboplatina e a iproplatina induzem aberrações cromossômicas e TCI em frequências menores (SRB et al., 1986;



Tabela 1. Fenômenos citogenéticos encontrados em frequências aumentadas em ensaios *in vitro* desenvolvidos com o agente antineoplásico degradante bleomicina.

Aberrações cromossômicas	Trocas entre cromátides-irmãs	Referência
tipo celular - organismo **		
cél. ovário-HC		HITTELMAN & RAO, 1974
linfócitos-H		TAMURA <i>et al.</i> , 1974
		PROMCHAINANT, 1975
		SIEBER & ADAMSON, 1975
		DRESP <i>et al.</i> , 1978
	fibroblastos-HS	BANNERJEE & BENEDICT, 1979
linfócitos-H		VIG, 1979
fibroblastos-C		
cél. linfoblastóides AT-H		COHEN <i>et al.</i> , 1981
linf. T leucêmicos		TAGUCHI, 1987
	cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988

** : AT = ataxia telangectasia; C = camundongo; H = humano; HC = hamster chinês; HS = hamster sírio.

Tabela 2. Fenômenos citogenéticos encontrados em frequências aumentadas em ensaios *in vitro* desenvolvidos com agentes antineoplásicos alquilantes.

Agente *	Aberrações cromossômicas	Trocas entre cromátides-irmãs	Referência
tipo celular - organismo **			
Bussulfan	linfócitos-H linfócitos-H	linfócitos-H cél. ovário-HC	FUKUSHIMA, 1970 SIEBER & ADAMSON, 1975 RAPOSA, 1978
Carbo-Pt Ciclofosfamida	linfócitos-H linfócitos-H	linfócitos-H linfócitos-H linfócitos-H cél. ovário-HC linfócitos-H cél. baço-C cél. embrionárias-C	SINGH & GUPTA, 1988 SHINKAI et al., 1988 SIEBER & ADAMSON, 1975 RAPOSA, 1978 NATARAJAN et al., 1983 TAKESHITA & CONNER, 1984 KRISHNA et al., 1987 VOGEL & SPIELMANN, 1987
cis-Pt	linfócitos-H fibrob.pulmão-HC	fibroblasto pulmão-HC	MEYNE et al., 1979 TURBULL et al., 1979
cis-Pt, Espiro-Pt, Carbo-Pt, Ipro-Pt		fibroblasto pulmão-HC	CHIBBER & ORD, 1987
cis-DDP, EM-Pt	linfócitos-H cél. ovário-HC		SRB et al., 1986 SINGH & GUPTA, 1988
Clorambucil	linfócitos-H linfócitos-H	linfócitos-H	REEVES & MARGOLES, 1974 SIEBER & ADAMSON, 1975 RAPOSA, 1978
Dacarbazina	cél. ovário-HC	cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988
Isofosfamida, Trofosfamida	linfócitos-H		SINGH & GUPTA, 1988 MOHN & ELLENBERGER, 1976
Lomustina		cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988
Hexfalan	linfócitos-H	fibroblastos-HS	SIEBER & ADAMSON, 1975 BANERJEE & BENEDICT, 1979 BROGGER & JOHANSEN, 1972 HOEHN & MARTIN, 1972 HOEHN & MARTIN, 1973 MORAD et al., 1973 AYRAUD et al., 1976 KATO & SHIHADA, 1975 SIEBER & ADAMSON, 1975 ISHII & BENDER, 1978 VIG, 1979 ISHII, 1981 NATARAJAN et al., 1983 SOIGNIER & HITTÉLMAN, 1986 TOHDA & OIKAWA, 1986 MOQUET et al., 1987 SINGH & GUPTA, 1988 SIEBER & ADAMSON, 1975 BANERJEE & BENEDICT, 1979 BEGLEITER, 1986
Mitomicina-C	linfócitos-H fibroblastos-H		
	linfócitos-H		
	linfócitos-H	cél. ovário-HC	
	linfócitos-H	linfócitos-H	
	linfócitos-H cél. - AF e XP cél. ovário-HC cél. HeLa	cél. - AF e XP cél. ovário-HC	
		linfócitos-H	
		cél. ovário-HC	
Tiotepa	linfócitos-H	fibroblastos-HS	
Quinônios	linfócitos-H		

*: Carbo-Pt = carboplatina; cis-DDP = cis-diaminodicloroplatina; cis-Pt = cis-Platina; EM-Pt = complexo platina etilmalonato; espiro-Pt = espiroplatina; ipro-Pt = iproplatina

** : AF = anemia de Fanconi; C = camundongo; H = humano; HC = hamster chinês; Hu = hamster; HS = hamster sírio; XP = xeroderma pigmentoso.

Tabela 3. Fenômenos citogenéticos encontrados em frequências aumentadas em ensaios *in vitro* desenvolvidos com agentes antineoplásicos intercalantes, antagonistas de ácidos nucleicos e folatos e inibidores do aparelho mitótico.

Mecanismo de ação	Agente	Aberrações cromossômicas	Trocas entre cromátides-irmãs	Referência
tipo celular - organismo *				
Intercalação	Actinomicina-D	linfócitos-H, cél. HeLa		SIEBER & ADAMSON, 1975
		linfócitos-H medula óssea-C	fibroblastos-HS	BANERJEE & BENEDICT, 1979 VIG, 1979
		cél. linfoma-C	cél. ovário-HC	RAJ & HEDDLE, 1980 De MARINI <i>et al.</i> , 1987
			cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988
	Adriamicina	linfócitos-H fibrob. pulmão-HC		MASSIMO <i>et al.</i> , 1970 KUSIK & HSU, 1976
		linfócitos-H cél. linfoma-C	linfócitos-H	NEVSTAD, 1978 MOORE <i>et al.</i> , 1987
	Ansacrina		cél. ovário-HC	La IGLESIA <i>et al.</i> , 1984
			cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988 VIG, 1979
	Antraciclina Daunomicina	linfócitos-HC		SIEBER & ADAMSON, 1975
		linfócitos-H	cél. ovário-HC	RAJ & HEDDLE, 1980
Antagonismo a purinas	Distamicina-A	linfócitos-H	cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988 PRATERA <i>et al.</i> , 1979
			cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988
	6-Mercaptopurina	linfócitos-H		SIEBER & ADAMSON, 1975
			fibroblastos-HS medula óssea-H	BANERJEE & BENEDICT, 1979 ZHANG <i>et al.</i> , 1988
Antagonismo a pirimidinas	Aractinomicina-C	linfócitos-H		SIEBER & ADAMSON, 1975
			linfócitos-H	AYRAUD <i>et al.</i> , 1976
	5-Azacitidina	linfócitos-H		RAPOSA, 1978
			cél. ovário-HC	MEYNE, 1979
Antagonismo ao folato	5-Fluorouracila, 5-Fluorouridina	linfócitos-H		BANERJEE & BENEDICT, 1979
				RONNE & ANDERSEN, 1978
	Metotrexato	cél. tumorais-C		MURCIA & NOMBELA, 1972
		linfócitos-H		SIEBER & ADAMSON, 1975
Inibição do aparelho mitótico	Colquicina	linfócitos-H	fibroblastos-HS	BANERJEE & BENEDICT, 1979
				MONDELLO <i>et al.</i> , 1984
	Etoposide	linfócitos-H	cél. ovário-HC medula óssea-H	MANANDHAR <i>et al.</i> , 1986
				ZHANG <i>et al.</i> , 1988
	Etoposide, Teniposide		linfócitos-H	SPEIT <i>et al.</i> , 1982
			cél. ovário-HC	TOMINAGA <i>et al.</i> , 1986
	Vincristina	cél. ovário-HC	cél. ovário-HC	SINGH & GUPTA, 1988
			linfócitos-H medula óssea-H	GUPTA <i>et al.</i> , 1987

*: C = camundongo; H = humano; HC = hamster chinês; HS = hamster sírio.

Tabela 4. Efeitos mutagênicos induzidos por agentes antineoplásicos com diferentes mecanismos de ação, detectados em ensaios *in vivo*.

Mecanismo de ação	Agente	Parâmetros analisados *	Tipo celular/ organismo **	Referência
Degradação	Bleomicina	AC	medula óssea-HC	VIG, 1979
Alquilação	Bussulfan	AC	cél. intestinais-HC	MILTENBURGER <i>et al.</i> , 1980
		AC	cél. embr. fígado-C	BASLER <i>et al.</i> , 1979
			medula óssea-C	
			oócitos-C	
	Ciclofosfamida	AC	espermatozóides-C	RATHENBERG, 1975
			medula óssea-C	SIEBER & ADAMSON, 1975
			medula óssea-HC	
		AC	medula óssea-R	TOPINKOVA & SRAM, 1982
		TCI	espermatozóides-C	ABRAHAM & FRANZ, 1983
			medula óssea-C	DRAGANI <i>et al.</i> , 1983
		TCI	medula óssea-C	REIMER & SINGH, 1983
		AC	medula óssea-C	RADELLO-GAY <i>et al.</i> , 1985
		AC e TCI	medula óssea-C	KRISHNA <i>et al.</i> , 1987
		TCI	medula óssea-C	KRISHNA <i>et al.</i> , 1988
			cél. baço-C	
	Ciclofosfamida,	AC	fibroblastos-C	NOHN & ELLENBERGER, 1976
	Isofosfamida,		medula óssea-HC	
	Trofosfamida			
	Mitomomicina-C	AC	espermatozóides-C	ADLER, 1973
			medula óssea-C	SIEBER & ADAMSON, 1975
		TCI	espermatozóides-C	ABRAHAM & FRANZ, 1983
		LD	espermatozóides-C	VIG, 1979
			Habrobracon	
	Procarbazina	TCI	espermatozóides-C	ABRAHAM & FRANZ, 1983
	Tiotepa	AC	espermatozóides-C	DEVI & REDDY, 1980
Intercalação	Actinomicina-D	LD	espermatozóides-C	VIG, 1979
			Habrobracon	
	Antraciclinas	AC	medula óssea-R	VIG, 1979
	Mitoxantrone	AC	medula óssea-R	MANANDHAR <i>et al.</i> , 1986
Antagonismo a purinas	6-Mercaptopurina	AC	medula óssea-C	HOLDEN <i>et al.</i> , 1973
			medula óssea-C,HC,R	SCHENCHING & BAUER, 1974
			espermatozóides-C	GENEROSO <i>et al.</i> , 1975

*: AC = aberrações cromossômicas; LD = mutações letais dominantes; TCI = trocas entre cromátides-irmãs

**: C = camundongo; HC = hamster chinês; R = rato

SHINKAI *et al.*, 1988; CHIBBER & ORD, 1989).

Os intercalantes parecem ser fortes indutores de aberrações cromossômicas e de TCI em estudos *in vitro*. No entanto, o mesmo não acontece em relação a indução de TCI em sistemas *in vivo*, pois não foram encontrados relatos sobre tais estudos.

Os antimetabólitos têm apresentado frequências aumentadas de aberrações cromossômicas e de TCI em ensaios *in vitro*, contudo, alguns pesquisadores encontraram tais efeitos somente quando as células em cultura eram submetidas à concentrações mais altas do que as usadas terapeuticamente (MONDELLO *et al.*, 1984; ZHANG *et al.*, 1988). Quanto aos efeitos dos antimetabólitos em estudos *in vivo* (Tabela 4) poucas observações foram encontradas, e todas referentes a 6-mercaptopurina (HOLDEN *et al.*, 1973; SCHENCHING & BAUER, 1974; GENEROSO *et al.*, 1975).

No que diz respeito aos inibidores do fuso mitótico, existem indicações de que a colquicina leva à ocorrência de endorreduplicação e poliploidia *in vitro* (SPEIT *et al.*, 1982), e a vincristina, o etoposide e o teniposide induzem aumento nas frequências de aberrações cromossômicas e TCI.

Não foram encontrados resultados negativos, isto é, não detecção de mutagenicidade, nos ensaios *in vitro* localizados na literatura especializada. Quanto aos estudos *in vivo*, três deles referiram resultados negativos. Neles foram pesquisados aberrações cromossômicas em medula óssea de ratos tratados com daunomicina (JENSEN & PHILIP, 1971), frequências de TCI em medula óssea e células do baço de hamster chinês tratados com ciclofosfamida (KRAM *et al.*, 1981) e em medula óssea de camundongos tratados com



mitomicina C (KRISHNA *et al.*, 1986).

A Tabela 5 sumariza resultados obtidos em pacientes terapeuticamente expostos aos antineoplásicos. Os efeitos dos inibidores do fuso mitótico em indivíduos expostos não são bem documentados, pois de modo geral não são utilizadas isoladamente (SCHINZEL & SCHMID, 1976; LAMBERT *et al.*, 1978a; 1979). Um único indivíduo terapeuticamente exposto à colquicina foi investigado por CESTARI *et al.* (1965) e este apresentava frequência aumentada de anormalidades cromossômicas em seus linfócitos.

Em relação aos antimetabólitos, como a fluorouracila, o metotrexato e a mercaptopurina, as conclusões também não são claras, igualmente por serem utilizados em terapia combinada. De modo geral, não há indicações que tais compostos sejam fortes indutores de aberrações cromossômicas (LAMBERT *et al.*, 1978a; RAPOSA, 1978; MUSILOVA *et al.*, 1979).

Pelas informações resumidas na Tabela 5, verifica-se que, tanto das terapias simples como das combinadas podem resultar efeitos clastogênicos e lesões no DNA. No entanto, um aspecto a destacar é que certas combinações parecem ser menos genotóxicas que outras. Por exemplo, GILLIAN-CLARE *et al.* (1982; 1983) encontraram efeitos mutagênicos em pacientes submetidos à BLM + CF + CLB + TS e ADM + CF + VCR + CCNU mas não nos submetidos à 5-FU + MTX e 5-FU + MTX + VCR. LAMBERT (1978a), TOMINAGA *et al.* (1980) e ABE (1985) também encontraram resultados positivos em determinadas terapias combinadas e negativos em outras, e NEVSTAD (1978) e RAPOSA (1978) obtiveram apenas resultados negativos.

Possíveis explicações para a variabilidade nos resultados podem incluir variações na extensão do período de tratamento, vias



Tabela 5. Estudos em pacientes terapeuticamente expostos à agentes antineoplásicos.

Referência	Agente*	Parâmetros Investigados**	
		AC	TCI
CESTARI et al., 1965	CQ	L(+)	
BORNSTEIN et al., 1971	BLM	MO(+)	
SCHMID & BAUCHINGER, 1973	CF	L(+)	
DOBOS et al., 1974	CF	L(+)	
SIEBER & ADAMSON, 1975	BS,CF,CLB,5-FU,MF,MN	L(+)	
	BLM	MO(+)	
	Ara-C,DN,MTX	L(+)	
		MO(+)	
	6-MP	L(+)	
		F(+)	
		MO(+)	
		L(+)	
	Act-D,BS,CF,5-FU,MF,MTX,TT,VCR, VBL, c/ diversas combinações		
	CF+MTX+HU	L(+)	
MOHN & ELLENBERGER, 1976	CF,IF,TF	L(+)	
SCHINZEL & SCHMID, 1976	Act-D,ADM,Ara-C,L-aspar,Aza,BLM, BS,CCNU,CLB,CF,DN,5-FU,HU,6-MP, MTX,MN,L-PAM,Proc,TG,VCR,VLB	L(+)	
	BLM	L(+)	
DRESP et al., 1978	ADM+CCNU+BLM+VCR;CCNU+BLM		L(+)
LAMBERT et al., 1978a	Act-D+5-FU;VCR+VBL;MTX+Pred+VCR		L(-)
NEVSTAD et al., 1978	ADM	L(-)	L(-)
RAPOSA, 1978	Ara-C+TG		L(-)
	CF;ADM+CF+Proc+VCR+VBL;CF+VBL	L(+)	
	CF+ADM	L(+)	
LAMBERT et al., 1979	CCNU	L(+)	L(+)
MUSILOVA et al., 1979	ADM,BS,CF,5-FU	L(+)	L(+)
STOJIMIROVIC et al., 1979	Ara-C,CF,MTX	L(+)	
GEBHART et al., 1980	CCNU+5-FU+VCR	L(+)	
OHTSURU et al., 1980	MTM-C	L(+)	
TOMINAGA et al., 1986	cis-Pt,ET	L(+)	L(+)
	ADM,CF,VCR	L(+)	L(-)
GILLIAN-CLARE et al., 1982	BLM+CF+CLB+TS		L(+)
	5-FU+MTX		L(-)
OHTSURU et al., 1982	CF+VCR		L(+)
CHERRY & HSU, 1983	BLM	L(+)	
GILLIAN-CLARE et al., 1983	ADM+CF+VCR+CCNU		L(+)
	MTX+VCR+5-FU		L(-)
GEBHART, 1984	Act-D,ADM,Ara-C,Aza,BLM,BS,CCNU, CLB,CF,CQ,DN,5-FU,HU,6-MP,MTX,TT,VCR	L(+)	L(+)
	m-AMSA	MO(+)	MO(+)
KAO-SHAM et al., 1984	MF	L(+)	L(+)
LAMBERT et al., 1984		L(+)	
ABE et al., 1985	CF+6-MP+Pred+VCR;CF+BLM+Pred+ Proc+VCR;CCNU+CF+DBM+5-FU+MTC		L(+)
	BLM,BS,Proc		L(-)
HEIM, 1985	MTC	L(+)	
GARCIA et al., 1986	Diversos não-especificados	L(+)	
LAMBERT & HOLMBERG, 1986	MF		L(+)
MURTY et al., 1987	MTC	L(+)	L(+)

* Act-D = actinomicina D; ACNU = nimustina; ADM = adriamicina; Ara-C = citosina arabinosídeo; m-AMSA = ansacrina; L-aspar = L-asparaginase; Aza = azatioprina; BLM = bleomicina; BS = bussulfan; CCNU = lomustina; CF = ciclofosfamida; CLB = clorambucil; CQ = colquicina; DBM = mitobromitol; DN = daunomicina; ET = etoposídeo; 5-FU = 5-fluorouracil; HU = hidroxiuréia; IF = isofosfamida; MF = melfalan; MN = mostarda nitrogenada; MTC = mitomicina; MTX = metotrexato; 6-MP = 6-mercaptopurina; L-PAM = l-fenilalanina mostarda; PIPO = pipobromam; Pred = prednimustina; Proc = procarbazona; TG = tioguanina; TF = trofosfamida; TS = treosulfam; TT = tiotepa; VCR = vincristina; VLB = vimblastina

** AC = aberrações cromossômicas; TCI = trocas entre cromátides-irmãs; (+) = com resultados positivos; (-) = com resultados negativos
L = linfócitos; F = fibroblastos; MO = medula óssea

de administração e dose utilizada dos antineoplásicos e as próprias condições físicas dos pacientes, além da variabilidade individual nas reações de metabolismo dos agentes, o que é de difícil avaliação. Além disso, são também importantes as diferenças decorrentes dos mecanismos de ação dos antineoplásicos no DNA. Por exemplo, os danos causados por agentes antimetabólitos e inibidores do aparelho mitótico, como 5-FU, o MTX, a VCR e a VBL, parecem ser mais facilmente reparados pelos mecanismos celulares do que os danos provocados pelos alquilantes.

I.4. Exposição ocupacional.

A pesquisa dos efeitos na saúde e das alterações ao nível genético, em indivíduos ocupacionalmente expostos a agentes químicos, têm despertado interesse crescente, principalmente devido à extensa gama dos novos produtos que vêm sendo comercializados.

Os estudos relativos ao câncer ocupacional têm fornecido inúmeras informações importantes, tanto do ponto de vista clínico como epidemiológico, possibilitaram a identificação de vários agentes carcinogênicos e abrindo o caminho para o entendimento dos seus mecanismos de ação. As vias respiratórias parecem ser os alvos mais sensíveis ao câncer ocupacional, estando afetadas em profissionais intensamente expostos a compostos arsenicais e ferrosos, asbestos, urânio, cromo, alumínio, pesticidas organoclorados e organofosforados, níquel, éteres clorometila, formaldeído e isopropanol (SARACCI, 1985; VAUGHAN et al., 1986;



COLLINGWOOD *et al.*, 1987; FLEISHER, 1987; FRIEDMAN *et al.*, 1987). No entanto, outros órgãos podem também funcionar como alvos principais, como é o caso do fígado em trabalhadores expostos a cloreto de vinila (SARACCI, 1985; PURCHASE, 1987), do rim em profissionais expostos a compostos aromáticos (BRANDT-RAUF & FALLON, 1987) e do sistema hematopoiético em indivíduos expostos rotineiramente a derivados de petróleo (TSONGAS, 1985). O efeito genotóxico de agentes de exposição ocupacional pôde ser verificado até mesmo através das frequências significativamente aumentadas de aberrações cromossômicas em células malignas de pacientes leucêmicos, que haviam trabalhado, por exemplo, com produtos derivados do petróleo (ROWLEY, 1983, 1985; MITELMAN, 1984).

As frequências de TCI aumentadas e taxas elevadas de aberrações cromossômicas em estudos populacionais sugerem um risco aumentado de câncer (BRADLEY *et al.*, 1979; FORNI, 1984; NORDENSON *et al.*, 1984; SORSA & YAGER, 1987; TUCKER *et al.*, 1988). Foram relatadas frequências aumentadas desses parâmetros em profissionais atuando em diversas áreas, como em metalúrgicos (RUDEK, 1985; RASMUSSEN *et al.*, 1988), em indivíduos ocupacionalmente expostos ao estireno (ANDERSON *et al.*, 1980), em trabalhadores e filhos de mulheres que trabalharam durante a gravidez em laboratórios químicos, em operários de indústria rotoimpressora (FUNES-CRAVIOTO *et al.*, 1977; LAMBERT & LINDBLAD, 1980), em indivíduos expostos ao benzeno (GILLIAN-CLARE *et al.*, 1984) e metais pesados (BABICH *et al.*, 1985). Também foram encontradas frequências aumentadas de TCI em trabalhadores expostos a óxido de etileno (SARTO *et al.*, 1987), a gases anestésicos (WHITE *et al.*, 1979; HUSUM, 1987), em operários de indústrias de ferramentas e em estudantes de anatomia, expostos

ao formaldeído da solução para embalsamamento (YAGER et al., 1986; GARRY et al., 1989). Foi encontrado, ainda, aumento significativo de aberrações cromossômicas em trabalhadores expostos ao pentaclorofenol (BAUCHINGER et al., 1982), ao chumbo (FORNI et al., 1980), ao mercúrio (POPESCU et al., 1979), ao monocloreto (HEALTH et al., 1977), a solventes orgânicos, derivados de petróleo e sedimentos contendo metais pesados, tais como chumbo, mercúrio, arsênico e cádmio (HOGSTEDT et al., 1981; MARK-VENDEL et al., 1981).

Em relação aos profissionais expostos aos antineoplásicos, há relatos na literatura de enfermeiros e farmacêuticos que apresentaram sintomas clínicos coincidentes aos dos pacientes submetidos à quimioterapia, como náuseas, vômitos, cefaléia, vertigens, lesões na mucosa nasal, perda de cabelo, insuficiência respiratória ou distúrbios neurológicos (CRUDI, 1980; LADIK et al., 1980; REYNOLDS & LAWRENCE, 1982; SOTANIEMI et al., 1983; McDIARMID & ERGAN, 1988). Na maior parte dos casos, os sintomas desapareceram após a modificação das condições ambientais em que o medicamento era preparado, com a introdução de elementos protetores como luvas, avental e máscara, e com a manipulação das drogas em câmaras de fluxo laminar vertical.

Tais resultados evidenciaram a ocorrência de absorção dos antineoplásicos por profissionais a eles expostos, o que também pôde ser comprovado pela detecção, em frequências significativamente elevadas, de metabólitos de antineoplásicos na urina de enfermeiras atuantes nos serviços de oncologia (HIRST et al., 1983, 1984; JAGUN et al., 1982). Tem-se, além disso, conhecimento de publicações



envolvendo a pesquisa de genotoxicidade em profissionais expostos à antineoplásicos, mas sem resultados concordantes, as quais serão discutidas adiante.

1.5. Objetivos.

A utilização dos agentes antineoplásicos é indispensável para o controle de vários tipos de neoplasias existentes e, atualmente, um grande número deles vem sendo intensamente usado. No entanto, muitos desses compostos são mutagênicos e carcinogênicos, e podem ser absorvidos durante o preparo e a administração ao paciente. Por isso, propôs-se a presente investigação, com o objetivo de detectar a ocorrência de efeitos genotóxicos no corpo técnico paramédico que manuseia os antineoplásicos, analisando uma amostra de aplicadores que atuam em hospitais de São José do Rio Preto e outras cidades do estado de São Paulo.

Os parâmetros analisados são as frequências de aberrações cromossômicas e de trocas entre cromátides-irmãs em linfócitos de sangue periférico e os resultados são comparados com os de duas outras amostras, uma constituída por profissionais paramédicos não-expostos aos antineoplásicos e outra por indivíduos não-expostos à agentes mutagênicos conhecidos, que exercem principalmente atividades administrativas e domésticas.

Tenta-se, ainda, relacionar as frequências de aberrações cromossômicas e de trocas entre cromátides-irmãs dos aplicadores de antineoplásicos com o período de tempo e a natureza da exposição aos antineoplásicos, e com outras variáveis como os dispositivos de proteção utilizados e a formação profissional.



II. MATERIAL E MÉTODOS

II.1. Caracterização das amostras estudadas.

O estudo cromossômico foi realizado em quarenta e cinco indivíduos caucasóides do sexo feminino, agrupados em três amostras: amostra A, composta por quinze enfermeiras, atendentes ou auxiliares de enfermagem, expostas ocupacionalmente a antineoplásicos; amostra E, composta por quinze enfermeiras, atendentes ou auxiliares de enfermagem não-aplicadoras de antineoplásicos, e amostra C, composta por quinze mulheres que exerciam atividade profissional sem exposição a agentes químicos. Por simplificação, as profissionais paramédicas serão aqui designadas genericamente como enfermeiras e os indivíduos que compõem as amostras serão abreviadamente classificados como aplicadores (amostra A), não-aplicadores (amostra E) e controles (amostra C). As participantes nas amostras E e C foram pareadas por idade com o grupo de aplicadoras. O material foi selecionado e analisado durante o período de outubro de 1987 a novembro de 1989.

Foram estudados indivíduos provenientes de sete hospitais de São José do Rio Preto, Barretos e São Paulo, denominados de unidades U1, U2, U3, U4, U5, U6 e U7. A idade e a unidade de atuação de cada aplicadora de antineoplásico, e outras informações, como função desempenhada, exposição semanal estimada, período total de exposição, tipo de proteção utilizada e antineoplásicos mais frequentemente manuseados, com sua forma de administração, são discriminados na Tabela 6. As aplicadoras tinham de 21 a 48 anos, com média e desvio padrão de $30,87 \pm 7,83$ anos. Essa amostra era



heterogênea em relação ao período de atuação com antineoplásicos, que variou de 3 meses a 15 anos, e de 2 a 42 horas semanais. Os antineoplásicos mais utilizados foram: adriamicina, aractinomicina-C, bleomicina, carmustina, ciclofosfamida, cis-platina, daunoblastina, etoposide, 5-fluorouracil, isofosfamida, L-asparaginase, mitomicina-C, metotrexato, tiotepa, vincristina, vimblastina e vepeside. As enfermeiras da U2 referiram o uso de aventais de manga longa, luvas, máscaras e óculos, enquanto as da U3 e U7 só usavam luvas. Na U1, algumas aplicadoras referiram o uso de avental, luvas e máscaras, enquanto uma delas não fazia uso de qualquer dispositivo de proteção. As 15 aplicadoras administravam os quimioterápicos por via endovenosa, mas outras vias eram também utilizadas: intramuscular (14), subcutânea (12), oral (9), intravesical (4) e intratecal (1).

A Tabela 7 apresenta a unidade de atuação de cada enfermeira da amostra E, a idade, a função, o setor de trabalho e os dispositivos de proteção utilizados. As idades dessas enfermeiras variavam de 21 a 56 anos, com média e desvio padrão de $31,80 \pm 9,51$ anos. As áreas de atuação eram postos de enfermagem (4), setor de pediatria (3), unidade de terapia intensiva (2), centro cirúrgico (2), berçário (2), setor de hemodiálise (1) e sala de pré-parto (1). O tempo de serviço variou de 2 meses a 14 anos e 9 meses e as atividades tinham cerca de 44 horas semanais. As profissionais que atuavam nos centros cirúrgicos e nas unidades de terapia intensiva usavam dispositivos de proteção, assim como as atuantes em berçário e no serviço de hemodiálise.

Os controles estão caracterizados na Tabela 8, por idade



Tabela 6. Caracterização das enfermeiras aplicadoras de antineoplásicos (amostra A).

Indivíduo	Unidade	Função	Idade	Exposição semanal (horas)	Período de exposição	Dispositivos de proteção	Antineoplásicos mais utilizados	Forma de administração
A1	U1	enfermeira	22	2	8 meses*	A, L, M	ADM, Ara-C, CF, ET, 5-FU, L-aspar, MTX, VCR, VLB	EV, IM, SC, VO
A2	U1	enfermeira	27	2	3 meses	A, L, M	ADM, Ara-C, CF, ET, 5-FU, L-aspar, MTX, VCR, VLB	EV, IM, SC, VO
A3	U1	técnica de laboratório	48	24	15 anos*		BCNU, CF, DB, 5-FU, IF, MTX, VCR, VLB	EV, IM, IT
A4	U2	atendente de enfermagem	27	20	9 anos	A, L, M	CF, cis-Pt, ET, MTC, VCR	EV, SC
A5	U1	enfermeira	21	2	3 meses*	A, L, M	ADM, Ara-C, CF, ET, 5-FU, L-aspar, MTX, VCR	EV, IM, SC
A6	U3	atendente de enfermagem	38	40	5 anos	L**	ADM, Ara-C, BLN, BCNU, CF, ET, 5-FU, MTC, MTX, TT, VCR	EV, IM, SC, VO
A7	U3	auxiliar de enfermagem	35	40	8 meses	L**	ADM, Ara-C, BLN, BCNU, CF, ET, 5-FU, MTC, MTX, TT, VCR	EV, IM, SC, VO
A8	U2	auxiliar de enfermagem	34	36	6 meses*	A, L, H, O	ADM, Ara-C, BLN, BCNU, CF, DN, 5-FU, MTX, VCR, VLB	EV, IM, SC
A9	U2	auxiliar de enfermagem	36	36	6 meses*	A, L, H, O**	ADM, Ara-C, BLN, BCNU, CF, DN, 5-FU, MTX, VCR, VLB	EV, IM, SC
A10	U7	auxiliar de enfermagem	23	42	2 anos e 2 meses	L	ADM, Ara-C, CF, cis-Pt, DN, MTX, VCR, VP	EV, IM, IV, SC, VO
A11	U7	enfermeira	33	42	1 ano	L	ADM, Ara-C, CF, cis-Pt, DN, MTX, VCR, VP	EV, IM, IV, SC, VO
A12	U7	auxiliar de enfermagem	41	42	1 ano e 3 meses	L	ADM, Ara-C, CF, cis-Pt, DN, MTX, VCR, VP	EV, IM, IV, SC, VO
A13	U7	enfermeira	23	42	8 meses	L	ADM, Ara-C, CF, cis-Pt, DN, MTX, VCR, VP	EV, IM, IV, SC, VO
A14	U1	enfermeira	27	20	3 anos	A, L, M	ADM, BLN, CF, cis-Pt, MTX, VCR, VP	EV, IM, VO
A15	U1	enfermeira	28	16	6 meses	A, L, M	ADM, BLN, CF, cis-Pt, MTX, VCR, VP	EV, IM

* exposição não regular; ** uso ocasional; A = avental de mangas longas; L = luvas; H = máscaras; O = óculos.

ADM = adriamicina; Ara-C = aractinomicina; BLN = bleomicina; BCNU = carmustina; CF = ciclofosfamida; cis-Pt = cisplatina; DB = daunoblastina; DN = daunomicina; ET = etoposide; 5-FU = 5-fluorouracil; IF = isofosfamida; L-aspar = L-asparaginase; MTC = mitomicina-C; MTX = metotrexato; IT = tiotepa; VCR = vincristina; VLB = vimblastina; VP = vepesid.

EV = endovenosa; IM = intramuscular; IT = intratecal; IV = intravesical; SC = subcutânea; VO = via oral.

Tabela 7. Caracterização das enfermeiras não-aplicadoras de antineoplásicos (amostra E).

Indivíduo	Unidade	Idade	Função	Sector de trabalho	Dispositivos Proteção	Tempo de serviço
E1	U6	28	atendente de enfermagem	sala de pré-parto		6 meses
E2	U5	29	atendente de enfermagem	posto de enfermagem		6 anos
E3	U6	20	atendente de enfermagem	pediatria		6 meses
E4	U2	28	auxiliar de enfermagem	centro cirúrgico	A,G,L*, M*,Pró-pé	8 anos
E5	U2	31	auxiliar de enfermagem	centro cirúrgico	A,G,L*, M*,Pró-pé	10 anos
E6	U4	40	atendente de enfermagem	berçário	A,G,L*,Pró-pé	10 anos
E7	U5	45	atendente de enfermagem	pediatria		6 meses
E8	U6	32	atendente de enfermagem	pediatria		14 anos e 9 meses
E9	U1	23	enfermeira supervisora	postos de enfermagem		2 meses
E10	U4	56	atendente de enfermagem	posto de enfermagem		12 anos
E11	U4	21	atendente de enfermagem	unidade de terapia intensiva	A,L*,Pró-pé	6 meses
E12	U4	34	atendente de enfermagem	hemodiálise	A,L*	8 anos
E13	U4	27	enfermeira	unidade de terapia intensiva	A,L*,Pró-pé	3 anos
E14	U6	27	enfermeira	posto de enfermagem		1 ano e 3 meses
E15	U6	36	atendente de enfermagem	berçário	A,Pró-pé	9 anos e 3 meses

* uso ocasional; A = avental de mangas longas; G = gorro; L = luvas; M = máscaras

Tabela 8. Caracterização dos controles (amostra C).

=====		
Amostra	Idade	Atividade profissional
=====		
C1	22	escriturária
C2	24	auxiliar técnica de banco de sangue
C3	45	doméstica
C4	29	supervisora de setor de pagamento
C5	21	auxiliar de administração geral
C6	39	bancária
C7	32	doméstica
C8	37	receptionista
C9	33	auxiliar de tesouraria
C10	26	bibliotecária
C11	32	bibliotecária
C12	40	doméstica
C13	22	bibliotecária
C14	25	escriturária
C15	28	secretária
=====		

e atividade profissional desenvolvida. As idades variaram de 21 a 45 anos, com média e desvio padrão de $30,34 \pm 7,37$ anos. A atividade administrativa era desenvolvida em universidades públicas. A auxiliar técnica do banco de sangue (C2) tinha a tipagem sanguínea como única função.

Nenhum dos indivíduos estudados era fumante, todos eram saudáveis, com dieta alimentar usual e não consumiam bebida alcoólica. Além disso, não tinham recebido radiação, feito uso de medicamentos ou contraído doença viral próximo aos testes aplicados neste estudo.

II.2. Cultura de linfócitos.

A análise cromossômica foi feita em linfócitos de sangue periférico, colhidos duas a três horas após a manipulação dos agentes antineoplásicos, com o auxílio de seringa descartável, heparinizada com Lique mine (Roche). De cada indivíduo foram retirados de 8 a 10 ml de sangue e o plasma foi obtido após sedimentação na própria seringa. Os linfócitos foram cultivados em meio RPMI 1640 (Cultilab) enriquecido com 20% de soro AB humano filtrado, penicilina e estreptomicina, segundo técnica de MOORHEAD *et al.* (1960), com modificações.

Dois ml de plasma de cada indivíduo foram adicionados a um frasco com 18 ml de meio completo e solução de fitohemaglutinina (fornecida pelo Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP) na concentração final de 0,36 mg/ml de meio, para estimulação da divisão celular. O conteúdo do frasco, após agitação, foi dividido em duas partes iguais, uma das quais foi



subdividida nas duas réplicas utilizadas para análise usual. A outra parte, foi adicionada solução de 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU, Sigma) com concentração final de $3,25 \times 10^{-5}$ M e, após agitação, seu conteúdo foi distribuído em dois frascos cobertos com papel alumínio. Estas culturas foram desenvolvidas e manipuladas no escuro até a etapa de bloqueio, a partir da qual procedeu-se o manuseio sob condições normais de iluminação. Tais cuidados decorreram das observações de que a exposição à radiação ultra-violeta (UV) pode transformar certos componentes do meio de cultura em indutores de TCI (MONTICONE & SCHNEIDER, 1979) e levar à fotólise das cadeias de DNA que incorporaram a 5-BrdU, também aumentando a frequência de TCI (WOLFF & PERRY, 1974). Todos os frascos foram mantidos à 37° por 72 horas.

Uma hora antes do término do cultivo adicionou-se 0,1 ml de solução de colquicina Houdé (Lab. Pierre-Docta S.A.) a 4×10^{-4} M em cada réplica, para a interrupção da divisão celular. Após o bloqueio, o material foi centrifugado, o sedimento hipotonizado com adição de 3 ml de KCl a 0,075 M por dez minutos a 37° C, e fixado em metanol-acético (3:1). A suspensão celular foi gotejada em lâminas úmidas e geladas. De cada réplica prepararam-se cinco lâminas.

O material cultivado em presença da 5-BrdU foi submetido à técnica FPG (Fluorescência plus Giemsa) para coloração diferencial entre cromátides-irmãs, segundo KORENBERG e FREEDLENDER (1974), com algumas modificações. Inicialmente, cada lâmina foi coberta com um filme de bisbenzimidaz (Hoechst 33258, Sigma) em solução fisiológica de Hanks a 0,5% com concentração final de 0,05 μ g/ml e submetida à luz UV (Philips UV, 15W), a uma distância de 12 cm por 12 minutos.



Em uma segunda etapa, cerca de três a sete dias após a fixação do material, as lâminas foram incubadas em tampão fosfato NaH_2PO_4 1 M (pH 8,1 a 8,3) a $87-89^\circ\text{C}$, por um tempo variando de 15 a 45 segundos, conforme o período decorrido após a fixação. Em seguida, foram lavadas em água destilada, coradas em solução a 2% de Giemsa (Merck S/A Industrias Químicas) por 5 minutos e novamente lavadas em água destilada. A análise de trocas entre cromátides-irmãs (TCI) foi desenvolvida em células de segundo ciclo celular, que apresentam uma cromátide mais fortemente e outra mais fracamente corada, ou apresentam ambas com segmentos mais ou menos intensamente corados intercalados. Essa coloração diferencial é determinada pelo número de filamentos de DNA que incorporaram a 5-BrdU, apresentando-se clara a cromátide que incorporou a 5-BrdU nos dois filamentos (LATT, 1974a).

As lâminas das outras réplicas foram submetidas à técnica de coloração usual por Giemsa. O material foi hidrolizado em HCl 1 N, a 60°C , por sete minutos. A seguir, foi lavado rapidamente em água desionizada gelada e em água destilada corrente por dez minutos. Posteriormente, foi submetido a um banho rápido de solução tampão Sorensen pH 6,8, corado em solução tamponada de Giemsa a 2% por cerca de 5 minutos e lavado em água destilada.

II.3. Estudo citogenético.

As lâminas foram codificadas e a análise realizada em teste cego. De cada indivíduo foram analisadas 100 metáfases em coloração usual e 50 metáfases com diferenciação entre cromátides-irmãs.



A ocorrência de aberrações cromossômicas foi pesquisada com aumento de 1000 vezes, em 100 metáfases coradas usualmente de cada indivíduo. Foram escolhidas metáfases tecnicamente boas, ou seja, sem grau acentuado de contração cromossômica e sem superposições e com número mínimo de 46 cromossomos. Nas metáfases em que ocorreram alterações estruturais foram identificados os cromossomos ou os grupos cromossômicos envolvidos, a região cromossômica afetada (terço proximal, mediano ou distal) e o tipo de anomalia encontrada.

Os eventos anômalos foram classificados de acordo com Paris Conference (1971) e ISCN (1978). As descontinuidades com desalinhamento e com o segmento cromossômico separado do restante por uma distância superior à largura da cromátide foram consideradas quebras, as descontinuidades sem desalinhamento ou com desalinhamento mínimo dos segmentos, e sem ultrapassar a distância equivalente à largura da cromátide, foram consideradas falhas. As quebras e as falhas foram consideradas cromatídicas quando afetavam apenas uma das cromátides, cromossômicas quando ambas as cromátides eram afetadas, e centroméricas quando envolviam o centrômero.

Em relação às anomalias numéricas, foi pesquisada a hiperploidia e identificado o cromossomo ou o grupo cromossômico com elementos presentes em excesso.

Os eventos anômalos encontrados foram fotografados para documentação ou melhor esclarecimento em microscópio Carl Zeiss modelo WL, com equipamento fotográfico MC 36, usando-se filtro de interferência verde (Carl Zeiss ref. 467806). Utilizou-se filme Panatomic X (Kodak) revelado em solução Kodak D-72 por 2 minutos e

meio. Os negativos foram copiados em papel fotográfico Kodabromide F3 ou F4, da Kodak ou BBS3, BSS4 e RCBBDD3, da TALBOT.

A frequência de trocas entre cromátides-irmãs foi investigada em células de segundo ciclo celular cultivadas na presença da 5-BrdU, com aumento de 1000 vezes. Para cada indivíduo analisaram-se 50 metáfases completas, sem superposição ou grau acentuado de condensação cromossômica. Identificou-se a localização da troca no terço proximal, mediano ou distal e o braço cromossômico portador.

II.4. Análise estatística.

A metodologia empregada inicialmente foi a análise descritiva e exploratória de dados segundo TUKEY (1977), a qual mostrou que os dados não tinham uma distribuição normal.

As frequências de anomalias cromossômicas foram, então, submetidas à transformação arco-seno da raiz quadrada, para ajustar os dados a uma distribuição normal. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para verificação da heterogeneidade das três amostras e os intervalos de 95% de confiança foram calculados com base no desvio padrão ponderado.

As frequências de trocas entre cromátides-irmãs (TCI) sofreram transformação raiz quadrada para realização dos testes estatísticos, também para garantir um melhor ajustamento à distribuição normal. Adotou-se, então, para os dados transformados, um modelo de planejamento hierárquico misto. Procedeu-se a análise de variância (ANOVA) para o modelo adotado, comparando-se as três amostras e os indivíduos dentro de cada amostra. Calcularam-se

também os intervalos de 95% de confiança para a média com base no desvio padrão ponderado para cada indivíduo dentro de cada amostra, e para cada uma das amostras estudadas.

Para testar a casualidade da distribuição de anomalias cromossômicas ao longo dos cromossomos, e da distribuição de TCI ao longo dos cromossomos e no cariótipo, assim como para testar a homogeneidade das distribuições das frequências desses parâmetros entre as amostras, utilizou-se o qui-quadrado.

Utilizou-se o teste Z para comparação das frequências de quebras e de falhas nas amostras A, E e C, e o teste de igualdade de proporções de FLEISS (1981) para comparar as distribuições de quebras e falhas nas três amostras.

Foi feita análise de correlação entre as frequências de aberrações cromossômicas e de TCI dos indivíduos aplicadores de antineoplásicos e o tempo de exposição ao qual estavam submetidos, sendo sua significância testada pelo teste t.

Os testes estatísticos foram aplicados de acordo com NETER & WASSERMAN (1979), FLEISS (1981) e PERES & SALDIVA (1982). Fixou-se em 5% o nível crítico de rejeição da hipótese de nulidade.



III. RESULTADOS

III.1. Anomalias cromossômicas.

As frequências de anomalias cromossômicas estruturais e numéricas são apresentadas na Tabela 9. A amostra A apresentou anomalias em 8,3% de metáfases, a amostra E em 2,5% e a amostra C em 2,3%. As quebras e falhas cromossômicas e cromatídicas foram os eventos mais frequentes nas três amostras e as quebras centroméricas foram raras. As anomalias estruturais de outros tipos, que foram mais comuns na amostra A, e as anomalias numéricas estão discriminadas na Tabela 10. As alterações estruturais consistiram em cromossomos com deficiências ou braços aumentados, fragmentos acêntricos, translocações e "double minutes", estes últimos, aparecendo em uma única célula. A anomalia referida no indivíduo A6 parece ser uma $t(1;D)$ e as encontradas em A9 e em C8 parecem consistir em $t(D;D)$, pois em A9 o fragmento assemelhavam-se ao braço curto do cromossomo D e em C8 os fragmentos assemelhavam-se aos braços longos dos cromossomos D. A interpretação dos rearranjos não pôde ser feita sem bandamento cromossômico.

As alterações numéricas foram encontradas em baixas frequências e, ao nível da técnica utilizada, foram identificadas como trissomias dos cromossomos 2, B, C e D, além de um marcador que consistia em um cromossomo submetacêntrico com tamanho pouco maior do que um cromossomo do grupo F. Foram encontrados dois eventos anômalos estruturais em algumas metáfases de indivíduos das amostras A e C, mas apenas um nos da amostra E (Tabela 11). Na Figura 1 são

apresentadas metáfases parciais exemplificando algumas aberrações estruturais encontradas.

As médias e os desvios padrões das frequências transformadas de metáfases com aberrações cromossômicas são apresentadas na Tabela 12. Os resultados da análise de variância (ANOVA) para comparação dessas frequências entre as amostras constam da Tabela 13 e indicam que elas diferem significativamente entre si, em relação à esta característica ($F=19,01$; $P<0,05$). Os intervalos de confiança, também constantes da Tabela 12, mostram que as amostras C e E são semelhantes, enquanto que a amostra A difere das demais.

A Tabela 14 apresenta as frequências absolutas e relativas de quebras e falhas em cada amostra, discriminadas como eventos cromatídicos ou cromossômicos e a Figura 2 representa graficamente as frequências absolutas de quebras e falhas, excluídos os eventos centroméricos, assim como as frequências de outros tipos de alterações estruturais e de anomalias numéricas. As distribuições de quebras e falhas não diferem entre as amostras (qui-quadrado=1,07; G.L.=2; $P>0,05$). Todavia, as quebras são mais comuns do que as falhas nas amostras A ($Z=3,82$; $P<0,05$), E ($Z=2,20$; $P<0,05$) e C ($Z=2,96$; $P<0,05$), sendo 0,7 a probabilidade de ocorrência de quebras e 0,3 a probabilidade de aparecerem falhas.

A frequência de quebras cromossômicas na amostra A é significativamente mais elevada que a de quebras cromatídicas ($Z=3,50$; $P<0,05$); no entanto, quanto às frequências de eventos dos tipos cromossômico e cromatídico, não há diferenças em relação às falhas ($Z=1,50$; $P<0,05$). Nas amostras C e E não foram aplicados testes estatísticos, devido às baixas frequências dos eventos



observados. Em frequências relativas, os eventos cromossômicos são mais comuns na amostra E, enquanto na amostra C são mais comuns os cromatídicos.

As frequências absolutas e relativas de anomalias cromossômicas, discriminadas pelos cromossomos ou grupos cromossômicos em cada uma das amostras, estão na Tabela 15. Também são apresentadas as frequências casualmente esperadas em função do tamanho relativo de cada cromossomo ou grupo cromossômico, de acordo com LUBS *et al.* (Paris Conference, 1971). A Figura 3 ilustra as frequências relativas constantes desta tabela. No entanto, o pequeno número de eventos não permite a verificação estatística da casualidade na distribuição das aberrações cromossômicas pelos cromossomos.

As frequências de quebras e falhas nas regiões proximal, mediana e distal, constam da Tabela 16, discriminadas por cromossomo ou grupo cromossômico e, em alguns casos, por braço cromossômico. Na Tabela 17 são agrupadas as frequências de quebras e falhas das regiões proximal, mediana e distal de todos os indivíduos de cada amostra. Neste agrupamento os eventos centroméricos foram considerados como proximais. Na amostra A, a região mais susceptível à ocorrência de anomalias é a proximal ($\chi^2=36,85$; G.L.=2; $P<0,05$) e as regiões mediana e distal apresentam aproximadamente a mesma proporção de anomalias. Nas amostras E e C não parece haver região preferencial à ocorrência de quebras e falhas ($\chi^2=0,60$; G.L.=2; $P<0,05$ e $\chi^2=3,84$; G.L.=2; $P>0,05$, respectivamente).

Não se detectou correlação entre a frequência de metáfases anômalas de cada aplicador de antineoplásicos e o tempo de



exposição ao qual ele estava submetido, expresso em meses ($r=0,22$; $P>0,05$). A amostra A foi, então, dividida em dois grupos: um composto por sete indivíduos, que tinham tempo de exposição igual ou maior do que um ano, cuja frequência média de metáfases anômalas foi 7,6%, e outro composto por oito indivíduos, com tempo de exposição menor do que um ano, cuja frequência média de metáfases anômalas foi 8,8%. Esses grupos também não diferem significativamente ($F=0,4$; $P>0,05$), portanto, o tempo de exposição não parece se relacionar com as frequências de aberrações cromossômicas observadas nessa amostra.

Um outro aspecto analisado refere-se a formação profissional dos indivíduos. Para isso, a amostra A foi dividida em outros dois grupos: um constituído por sete indivíduos que tinham curso superior em enfermagem e outro agrupando as auxiliares de enfermagem, que têm formação técnica (cinco indivíduos) e as atendentes de enfermagem (três indivíduos), que só têm formação prática. A frequência média de metáfases com anomalias no primeiro grupo foi 6,1% e no segundo foi 10,1%, sendo tal diferença significativa ($F=5,07$; $P<0,05$). Contudo, as frequências médias de metáfases com aberrações cromossômicas ainda são significativamente maiores no grupo das enfermeiras-padrão do que nas amostras E ($F=16,01$; $P<0,05$) e C ($F=18,67$; $P<0,05$).



Tabela 9. Anomalias cromossômicas em 100 metáfases de cada indivíduo das amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C). CS = cromossômica; CT = cromatídica; CE = centromérica; E = anomalia estrutural; N = anomalia numérica.

Amostra	Indivíduo	Frequência de eventos anômalos								% de metáfases anômalas	
		Quebras			Falhas			Outros			Total
		CS	CT	CE	CS	CT	CE	E	N		
A	1	2				1		1		4	
	2	2	2		3	1		1		9	
	3	6	4					1		11	
	4	3	3		3	2		1	2	14	
	5	4	2		3					9	
	6	3	2			3		1	1	10	
	7	5			1	2				8	
	8	10	1		2	6		2		21	
	9	7	3	1		2		1		14	
	10		3	1		1		2		7	
	11	1		1				2	1	5	
	12	2			1					3	
	13	3			1	1				5	
	14	2	1			3				6	
	15	4	2							6	
Total		54	23	3	14	22		12	4	132	8,3
E	1	1								1	
	2		1					1	1	3	
	3				2					2	
	4	2				2		1		5	
	5	1				1				2	
	6	3	1							4	
	7									0	
	8					1				1	
	9	2	2			1		1	1	7	
	10	1								1	
	11	2	1	1		1				5	
	12	1	1							2	
	13					1			1	2	
	14	1								1	
	15	1								1	
Total		15	6	1	2	7		3	3	37	2,5
C	1									0	
	2		2			3		1		6	
	3	1				1				2	
	4	4							1	5	
	5	2								2	
	6		2							2	
	7	1								1	
	8		1					3	1	5	
	9							2	1	3	
	10									0	
	11		1					1		2	
	12					1				1	
	13	2	3			1				6	
	14	2								2	
	15		1							1	
Total		12	10			6		7	3	38	2,3

Tabela 10. Anomalias estruturais (excluídas quebras e falhas) e numéricas observadas nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Amos- Indi-		Anomalia	
tra	víduo	Estrutural	Numérica
A	1	dm	
	2	del 3	
	3	Dq+	
	4	del 3	+2; +D
	6	-1,+2,Dq+	+C
	8	-C, +ace; del 1	
	9	-D, -D, +C, +ace	
	10	Bq+; +ace	
	11	Dq+, del 3	+2
E	2	+ace	+2
	4	Dq+	
	9	+ace	+C
	13		+D
C	2	Dq+	
	4		+C
	8	-D, -D, +F, +ace, +ace; Bq+	+B
	9	-1, -17, +ace, +ace	+mar
	11	Cp-	

Tabela 11. Frequências de eventos anômalos por metáfase (EAM) nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Indivíduo	Amostra A		Amostra E		Amostra C	
	1 EAM	2 EAM	1 EAM		1 EAM	2 EAM
1	4		1		0	
2	9		3		4	1
3	11		2		2	
4	12	1	5		5	
5	9		2		2	
6	8	1	4		2	
7	8		0		1	
8	11	5	1		3	1
9	14		7		1	1
10	7		1			
11	3	1	5		2	
12	3				1	
13	5		2		6	
14	6		1		2	
15	6		1		1	
Total	116	8	37		32	3

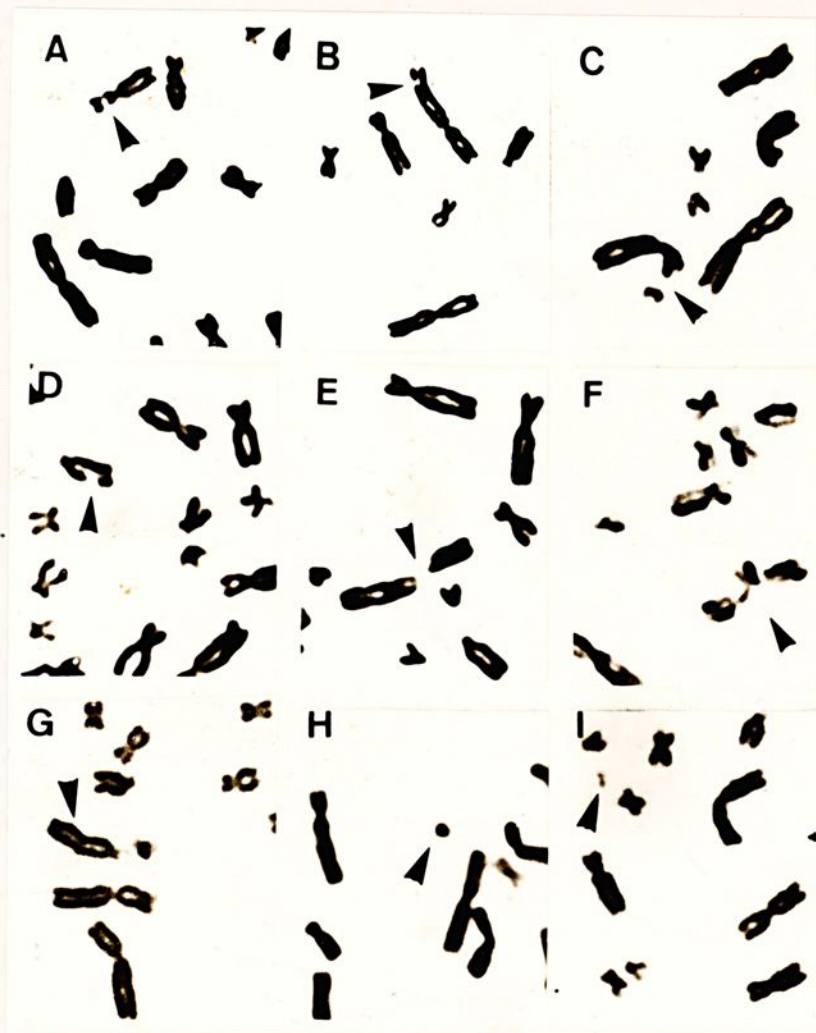


Figura 1. Metáfases parciais com: (A) falha cromossômica em indivíduo da amostra C; (B) falha cromatídica, (C) quebra cromossômica, (D) quebra cromatídica, (E) quebra centromérica, (F) figura trirradial, (G) cromossomo do grupo D com o braço longo aumentado, (H) fragmento cromossômico, (I) "double-minutes", em indivíduos da amostra A. As setas indicam as anomalias.

Tabela 12. Média e desvio padrão ($\bar{X} \pm S$) das frequências transformadas de metáfases com aberrações cromossômicas e intervalos de confiança (95%) nas amostras A, E e C.

Amostra	$\bar{X} \pm S$	Intervalo de confiança	
A	0,27 $\pm$ 0,08	[0,25 ; 0,33]	--x--
E	0,14 $\pm$ 0,07	[0,10 ; 0,18]	--x--
C	0,14 $\pm$ 0,08	[0,10 ; 0,18]	--x--

|-----|-----|-----|
0,10 0,20 0,30 0,40

Tabela 13. Análise de variância para comparação das frequências médias de anomalias cromossômicas transformadas entre as amostras A, E e C. #: $P < 0,05$.

FV	GL	SQ	QM	F
Amostra	2	0,22	0,11	19,01 #
Resíduo	42	0,24	0,01	
Total	44	0,46		

Tabela 14. Frequências absolutas (FA) e relativas (FR) de quebras e falhas cromatídicas e cromossômicas, nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Amostra	Elemento afetado	Quebras		Falhas		Total	
		FA	FR	FA	FR	FA	FR
A	Cromossomo	54	0,48	14	0,12	68	0,60
	Cromátide	23	0,20	22	0,20	45	0,40
	Cromos.+Cromát.	77	0,68	36	0,32	113	1,00
E	Cromossomo	15	0,50	02	0,07	17	0,57
	Cromátide	06	0,20	07	0,23	13	0,43
	Cromos.+Cromát.	21	0,70	09	0,30	30	1,00
C	Cromossomo	12	0,42	00	0,00	12	0,43
	Cromátide	10	0,36	06	0,22	16	0,57
	Cromos.+Cromát.	22	0,78	06	0,22	28	1,00

Figura 14. Frequências de quebras e falhas cromatídicas e cromossômicas nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C). UCS = quebras cromossômicas; CB = quebras cromatídicas; FCB = falhas cromossômicas; FCB = falhas cromatídicas; RE = quebras estruturais; AN = quebras não-aplicadoras.

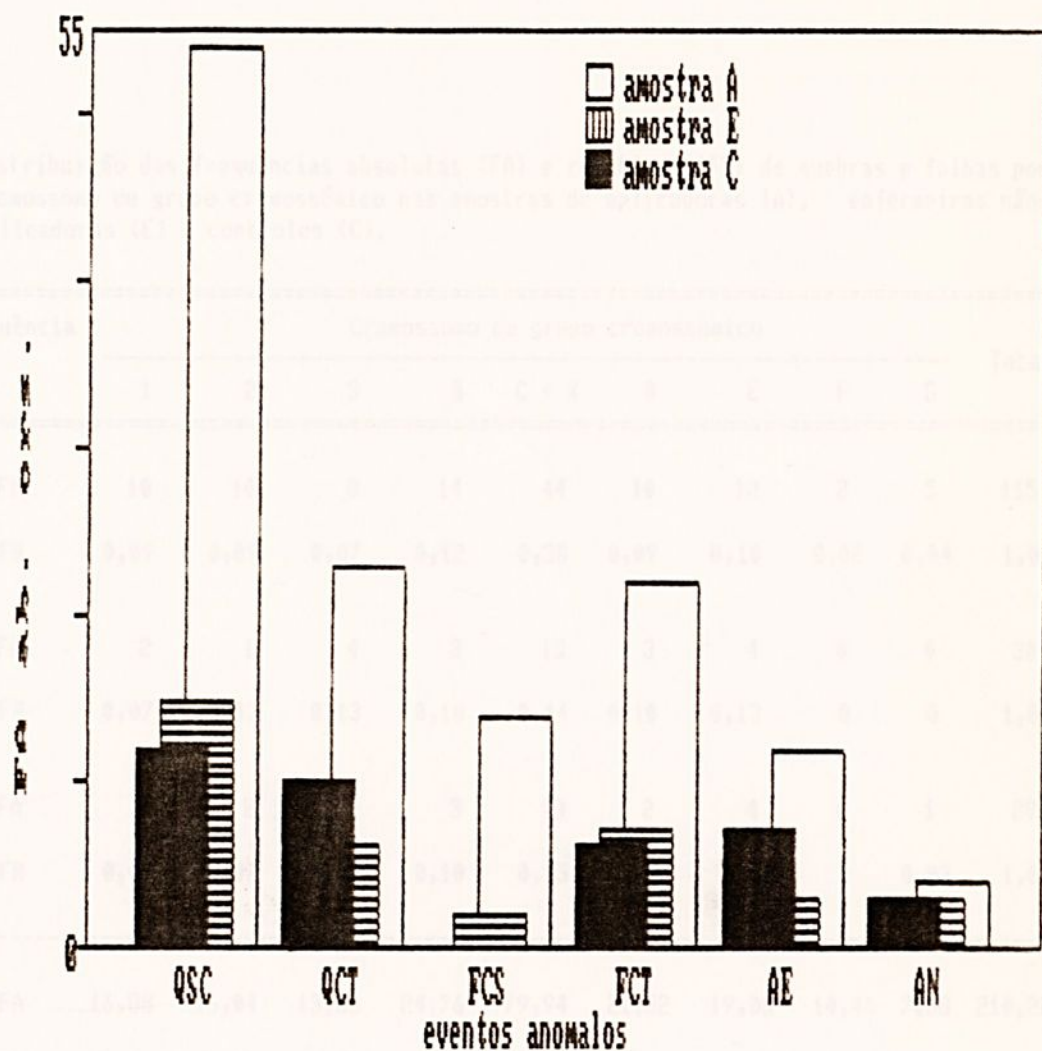


Figura 2. Frequência de aberrações cromossômicas nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C). QCS = quebra cromossômica; QCT = quebra cromatídica; FCS = falha cromossômica; FCT = falha cromatídica; AE = anomalia estrutural; AN = anomalia numérica.

Tabela 13. Distribuição das frequências absolutas (FA) e relativas (FR) de quebras e falhas por cromossomo ou grupo cromossômico nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Amostra	Frequência	Cromossomo ou grupo cromossômico									Total
		1	2	3	B	C + X	D	E	F	G	
A	FA	10	10	8	14	44	10	12	2	5	115
	FR	0,09	0,09	0,07	0,12	0,38	0,09	0,10	0,02	0,04	1,00
E	FA	2	1	4	3	13	3	4	0	0	30
	FR	0,07	0,03	0,13	0,10	0,44	0,10	0,13	0	0	1,00
C	FA	2	2	2	3	13	2	4	0	1	29
	FR	0,07	0,07	0,07	0,10	0,45	0,07	0,14	0	0,03	1,00
Tamanho relativo ao lote 2n*	FA	16,88	16,04	13,66	24,76	79,94	21,52	19,08	10,46	7,88	210,22
	FR	0,08	0,08	0,06	0,12	0,38	0,10	0,09	0,05	0,04	1,00

* Com base em LUBS et al. (Paris Conference, 1971).

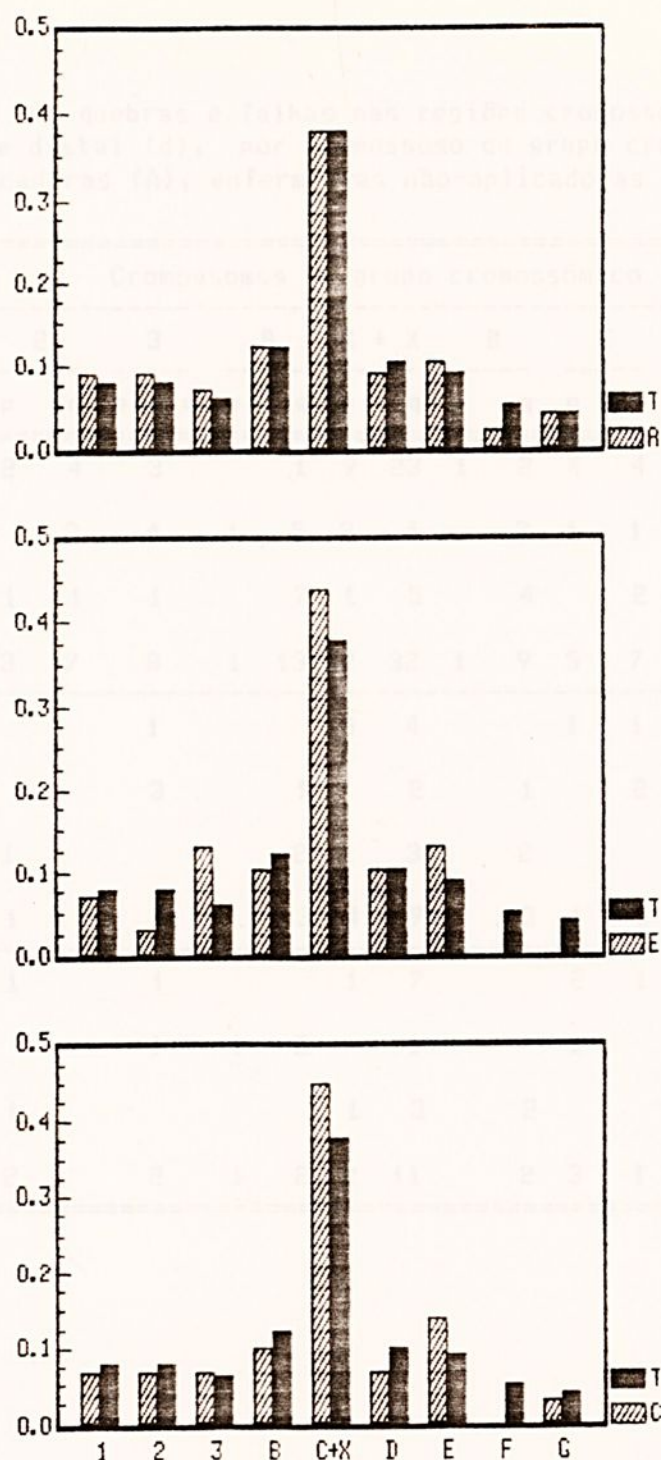


Figura 3. Frequências relativas de quebras e falhas por cromossomo ou grupo cromossômico nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E), controles (C) e a casualmente esperada (T) com base no tamanho relativo dos cromossomos (Paris Conference, 1971).

Tabela 16. Distribuição de quebras e falhas nas regiões cromossômicas proximal (p), mediana (m) e distal (d), por cromossomo ou grupo cromossômico, nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Amostra	Região cromossômica	Cromossomos ou grupo cromossômico														Total				
		1		2		3		B		C + X		D		E			F		G	
		p + q		p	q	p + q	p	q	p	q	p	q	p	q	p + q		p + q			
A	p	7	2	4	3		1	9	23	1	2	4	4	2		5		67		
	m	2		2	4	1	5	2	4		3	1	1				25			
	d	1	1	1	1		7	1	5		4		2				23			
	Total	10	3	7	8	1	13	12	32	1	9	5	7	2		5	115			
E	p	2			1		3	4			1	1					12			
	m				3		1		2		1		2				9			
	d		1				2	1	3		2						9			
	Total	2	1		4		3	4	9		3	1	3				30			
C	p	1	1		1		1	7			2	1				1	15			
	m	1			1	1	2		1		1						7			
	d		1					1	3		2						7			
	Total	2	2		2	1	2	2	11		2	3	1			1	29			

Tabela 17. Frequências de quebras e falhas nas regiões cromossômicas proximal, mediana e distal, nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Amostra	Região cromossômica						Total
	Proximal		Mediana		Distal		
	FA	FR	FA	FR	FA	FR	
A	67	0,58	25	0,22	23	0,20	115
E	12	0,40	09	0,30	09	0,30	30
C	15	0,52	07	0,24	07	0,24	29

III.2. Trocas entre cromátides-irmãs.

As frequências totais de trocas entre cromátides-irmãs nas 50 metáfases analisadas por indivíduo, assim como os valores médios, os limites e a variação (mínimo-máximo) de TCI por célula, nas amostras A, E e C, são apresentadas na Tabela 18. O número médio de TCI por célula variou na amostra A de $8,52 \pm 2,19$ a $21,44 \pm 5,15$, com frequência média de $15,71 \pm 1,97$; na amostra E variou de $8,42 \pm 3,46$ a $15,92 \pm 4,47$, com frequência média de $11,24 \pm 1,97$, e na amostra C de $5,72 \pm 2,05$ a $12,46 \pm 3,88$, com frequência média de $9,26 \pm 1,92$. O número máximo de TCI por célula foi 35, encontrado em célula da aplicadora A7, e o menor valor foi 1, encontrado nos controles C1 e C6. Nos indivíduos das três amostras há grande variabilidade intercelular, e a variação média dos números mínimos e máximos de TCI encontrados por célula foi 19 na amostra A, 15 na amostra E e 14 na amostra C.

A Figura 4 apresenta três metáfases com coloração diferencial entre as cromátides, uma com frequência baixa de TCI (6), encontrada no indivíduo A10, uma com frequência intermediária (18 TCI), encontrada em C8 e outra com frequência alta (35 TCI), encontrada em A7.

A Tabela 19 contém as médias, os desvios padrões e as representações gráficas dos intervalos de confiança das frequências transformadas de TCI, para cada indivíduo das três amostras, e a Tabela 20 apresenta tais parâmetros agrupando-se os indivíduos de cada amostra. As médias das frequências de TCI transformadas, comparadas por análise de variância (ANOVA), diferem significativamente entre as amostras ($F=22,16$; $P<0,05$), conforme



pode ser concluído dos dados da Tabela 21. Observa-se, ainda dos dados da Tabela 20, que as médias aumentam da amostra C para E e para A, assim como que a amostra A difere das amostras E e C, e amostra E também difere da C.

Há, também, variabilidade intraindividual significativa em todas as amostras: os valores de F mostraram diferenças interindividuais significativas na amostra A ($F=42,05$; $P<0,05$), na amostra E ($F=15,46$; $P<0,05$) e na amostra C ($F=17,72$; $P<0,05$), como apresentado na Tabela 22. No entanto, dos dados da Tabela 19 pode-se verificar que as diferenças intraindividuais situam-se em limites mais amplos na amostra A.

A Tabela 23 apresenta as distribuições das frequências de TCI por cromossomo ou grupo cromossômico e os valores de qui-quadrado para a comparação das frequências esperadas com base no tamanho relativo dos cromossomos (Paris Conference, 1971). Pode-se concluir que as distribuições de TCI não são proporcionais ao tamanho dos cromossomos em qualquer das amostras, e que, de modo geral, as frequências observadas são maiores que as esperadas nos cromossomos grandes (1, 2, 3 e os do grupo B) e menores nos cromossomos pequenos (16, 17, 18 e os dos grupos F, G). A Figura 5 representa graficamente as frequências relativas observadas nas três amostras e as esperadas com base no tamanho relativo dos cromossomos.

As frequências de TCI nas regiões proximal, mediana e distal, distribuídas por cromossomo ou grupo cromossômico, são apresentadas na Tabela 24 para as amostras A, E e C. Comparando-se as frequências de TCI entre as diferentes regiões cromossômicas, em



cada amostra, com o esperado casualmente de um terço em cada região, detectam-se diferenças significativas nas amostras A (qui-quadrado=32,5; G.L.=2; $P<0,05$), E (qui-quadrado=61,5; G.L.=2; $P<0,05$) e C (qui-quadrado=16,7; G.L.=2; $P<0,05$). Comparações das frequências de TCI entre as regiões em cada amostra (valores de qui-quadrado na Tabela 25), detectaram que as regiões proximal e mediana apresentam frequências de TCI semelhantes entre si e maiores do que as observadas na região distal.

Não se detectou correlação entre as frequências de TCI dos indivíduos aplicadores de antineoplásicos e o tempo de exposição profissional a esses agentes, expresso em meses ($r=-0,01$; $P>0,05$). A comparação dos dois grupos anteriormente referidos, o constituído por sete indivíduos com tempo de exposição igual ou maior do que um ano, cuja frequência média de TCI foi $14,72 \pm 4,18$, e o com oito indivíduos com tempo de exposição menor do que 1 ano, cuja frequência média de TCI foi de $16,58 \pm 3,46$, não detectou diferença significativa entre eles ($F=0,42$; $P>0,05$).

Na avaliação da possível participação da formação profissional dos indivíduos da amostra A, compararam-se os com formação em curso superior (enfermeiras-padrão) com os que não tinham formação universitária (auxiliares e atendentes de enfermagem). A frequência média de TCI das enfermeiras-padrão foi $15,42 \pm 3,26$ e das auxiliares e atendentes de enfermagem foi $15,97 \pm 4,43$, não havendo diferença significativa ($F=0,07$; $P>0,05$).

Não se detectou correlação entre as frequências médias de metáfases anômalas e de TCI em cada indivíduo da amostra A ($r=0,30$; $P>0,05$). Dividiu-se, então, essa amostra em dois grupos: um constituído de sete indivíduos que tinham frequências de metáfases



anômalas maior que a média da amostra, designado de grupo 1, cuja frequência média foi 11,6%; outro com os oito indivíduos com frequências de metáfases anômalas menor que a média da amostra, designado de grupo 2, cuja frequência média foi 5,4%. No grupo 1 a frequência média de TCI foi de $16,51 \pm 3,82$, que não diferiu significativamente da encontrada no grupo 2, que foi $15,02 \pm 3,90$ ($F=0,55$; $P>0,05$).

A amostra A foi novamente dividida em outros dois grupos: um com oito indivíduos com frequência de TCI maior que a média da amostra (grupo 1a, $18,49 \pm 2,11$ TCI/célula) e outro com sete indivíduos com frequência de TCI menor que a média da amostra (grupo 2a, $12,54 \pm 2,54$ TCI/célula). A frequência média de metáfases com aberrações cromossômicas foi 9,9% no grupo 1a e 6,4% no grupo 2a, não havendo diferença entre eles ($F=3,46$; $P>0,05$).

Tabela 18. Frequências de TCI em 50 células nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Amos- tra	Indi- víduo	Total	TCI/célula			Limites das freq. TCI/cel.		
			$\bar{X}$	$\pm$	S	mínimo	máximo	variação
A	1	857	17,14	$\pm$	4,43	8	27	19
	2	496	9,92	$\pm$	4,06	4	24	20
	3	701	14,02	$\pm$	3,86	7	25	18
	4	797	15,94	$\pm$	3,38	6	25	19
	5	985	19,70	$\pm$	4,92	6	32	26
	6	1076	21,44	$\pm$	5,15	10	33	23
	7	1062	21,24	$\pm$	4,86	11	35	24
	8	816	16,32	$\pm$	4,34	8	29	21
	9	910	18,20	$\pm$	4,59	7	28	21
	10	604	12,08	$\pm$	3,50	6	20	14
	11	657	13,14	$\pm$	4,38	4	24	20
	12	426	8,52	$\pm$	2,19	4	14	10
	13	775	15,50	$\pm$	4,17	9	27	18
	14	816	17,92	$\pm$	4,20	10	28	18
	15	730	14,60	$\pm$	4,39	5	27	22
	Total		15,71	$\pm$	3,79	4	35	31
E	1	506	10,12	$\pm$	2,84	6	16	10
	2	708	14,18	$\pm$	4,84	7	27	20
	3	464	9,28	$\pm$	2,98	3	15	12
	4	563	11,26	$\pm$	4,19	4	24	20
	5	622	12,44	$\pm$	3,55	6	25	19
	6	578	11,56	$\pm$	3,46	7	21	14
	7	531	10,62	$\pm$	2,85	4	17	13
	8	636	12,72	$\pm$	3,01	7	19	12
	9	796	15,92	$\pm$	4,47	6	26	20
	10	537	10,74	$\pm$	3,39	5	19	14
	11	517	10,34	$\pm$	3,04	5	20	15
	12	547	10,94	$\pm$	3,31	5	18	13
	13	448	8,96	$\pm$	2,84	4	17	13
	14	421	8,42	$\pm$	3,86	2	19	17
	15	567	11,34	$\pm$	3,13	5	19	14
	Total		11,24	$\pm$	1,97	2	27	25
C	1	417	8,54	$\pm$	3,50	1	15	13
	2	507	10,14	$\pm$	3,16	6	17	11
	3	447	8,94	$\pm$	2,59	4	18	12
	4	623	12,46	$\pm$	3,88	7	24	17
	5	369	7,38	$\pm$	3,32	2	16	14
	6	450	9,00	$\pm$	3,01	1	16	17
	7	459	9,18	$\pm$	2,86	4	15	18
	8	561	11,22	$\pm$	3,02	5	19	14
	9	584	11,68	$\pm$	3,88	6	26	19
	10	454	9,08	$\pm$	2,92	4	15	11
	11	372	7,44	$\pm$	3,23	2	17	15
	12	286	5,72	$\pm$	2,05	2	13	11
	13	606	12,12	$\pm$	5,02	4	22	18
	14	416	8,32	$\pm$	3,00	3	18	15
	15	388	7,76	$\pm$	2,63	2	14	12
	Total		9,26	$\pm$	1,92	1	26	25

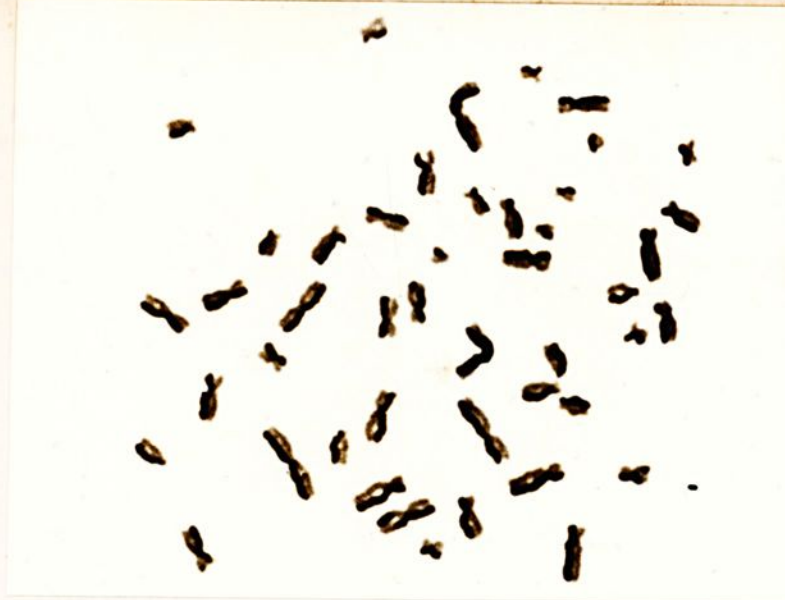


Figura 4. Trocas entre cromátides irmãs: (A) metáfase com 6 TCI; (B) metáfase com 18 TCI; (C) metáfase com 35 TCI.

Tabela 19. Média, desvio padrão ($\bar{X} \pm S$) e representação gráfica dos intervalos de confiança (95%) das frequências de TCI transformadas.

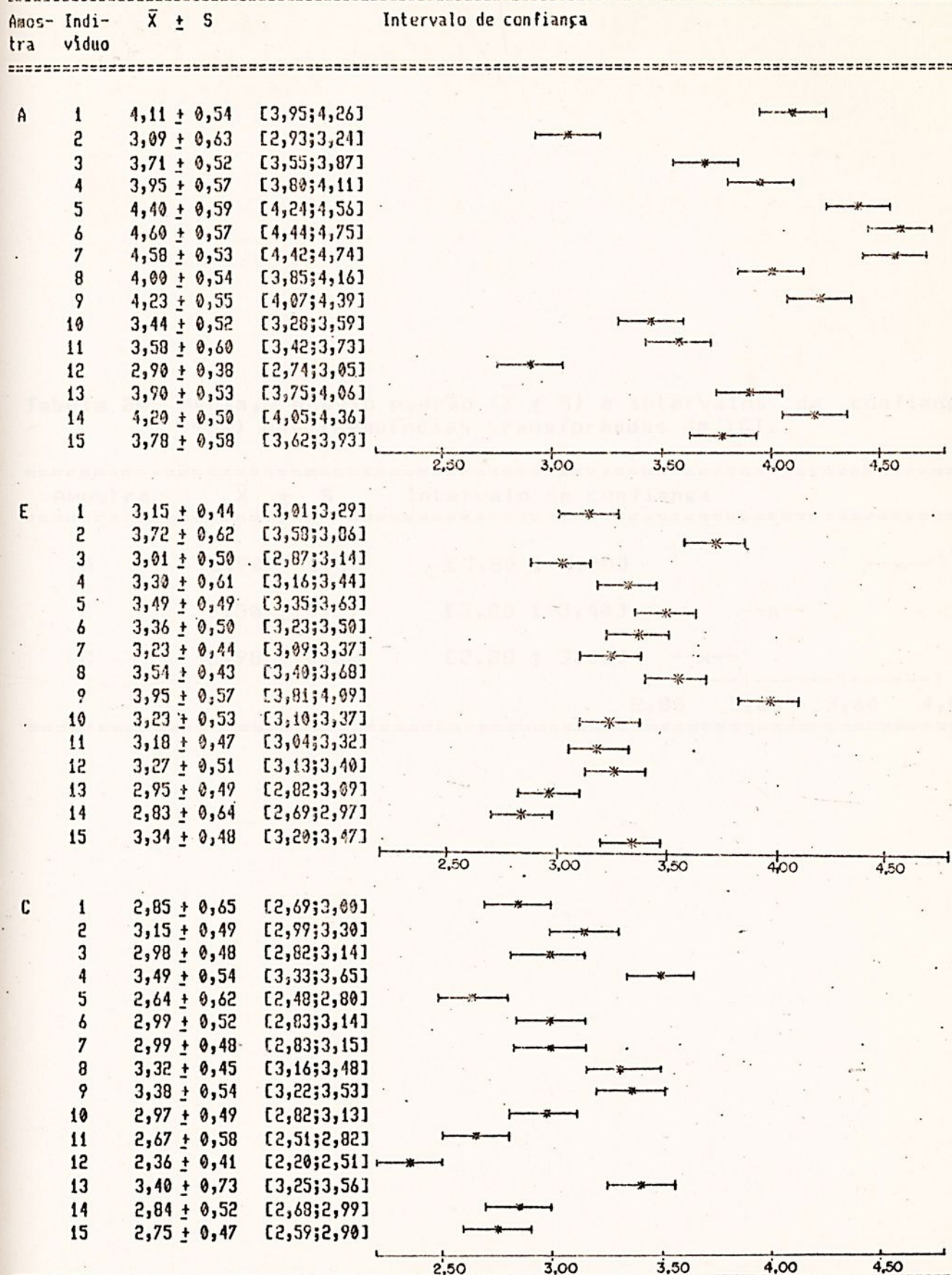


Tabela 20. Média, desvio padrão ($\bar{X} \pm S$) e intervalos de confiança (95%) das frequências transformadas de TCI.

Amostra	$\bar{X} \pm S$	Intervalo de confiança	
A	3,90 $\pm$ 0,50	[3,80 ; 4,00]	--x--
E	3,30 $\pm$ 0,29	[3,20 ; 3,40]	--x--
C	2,98 $\pm$ 0,32	[2,88 ; 3,08]	--x--
----- ----- ----- 2,80 3,20 3,60 4,00			

Tabela 21. Análise da variância para comparação das frequências transformadas de TCI entre as amostras. *: $P < 0,05$

	FV	QL	SQ	QM	F
Amostra	02	6,43	3,22	22,16 *	
Resíduo	42	6,10	0,14		
Total	44	12,53			

Tabela 22. Análise de variância para comparação das frequências de TCI dentro das amostras. *: $P < 0,05$

Amostra	FV	QL	SQ	QM	F
A	Indivíduo	14	174,69	12,48	42,05 *
	Resíduo	735	218,09	0,30	
	Total	749	392,78		
E	Indivíduo	14	58,27	4,16	15,46 *
	Resíduo	735	197,89	0,27	
	Total	749	256,18		
C	Indivíduo	14	71,70	5,12	17,72 *
	Resíduo	735	212,48	0,29	
	Total	749	284,18		

Tabela 23. Distribuições das frequências de TCI por cromossomo ou grupo cromossômico e valores de qui-quadrado para a comparação com as frequências esperadas com base no tamanho relativo dos cromossomos. O=observada; E=esperada; S.L.=9; *; P(0,05).

Amostra	Distribuição	Cromossomo ou grupo cromossômico										Total	qui-quadrado
		1	2	3	B	C + X	D	16	17+18	F	6		
A	O	1076	1059	784	1773	4710	1214	271	432	287	172	11778	
	E	945,8	893,7	765,3	1387,2	4778,8	1205,7	376,5	692,5	586,0	441,5	11778	810,9*
E	O	887	896	629	1281	3199	874	151	289	142	94	8442	
	E	677,8	644,1	548,6	994,3	3210,2	864,2	269,9	496,4	420,1	316,4	8442	737,0*
C	O	689	663	504	1079	2714	813	130	249	114	69	7024	
	E	564,0	535,9	556,3	827,2	2671,0	720,3	221,4	413,0	349,0	263,0	7024	558,3*
Tamanho re-	FA	16,88	16,04	13,66	24,76	79,94	21,52	6,72	12,36	10,46	7,08	210,22	
lativo do													
lote 2n*	FR	0,08	0,08	0,06	0,12	0,38	0,10	0,03	0,06	0,05	0,04	1,00	

* Com base na LUBS et al. (Paris Conference, 1971).

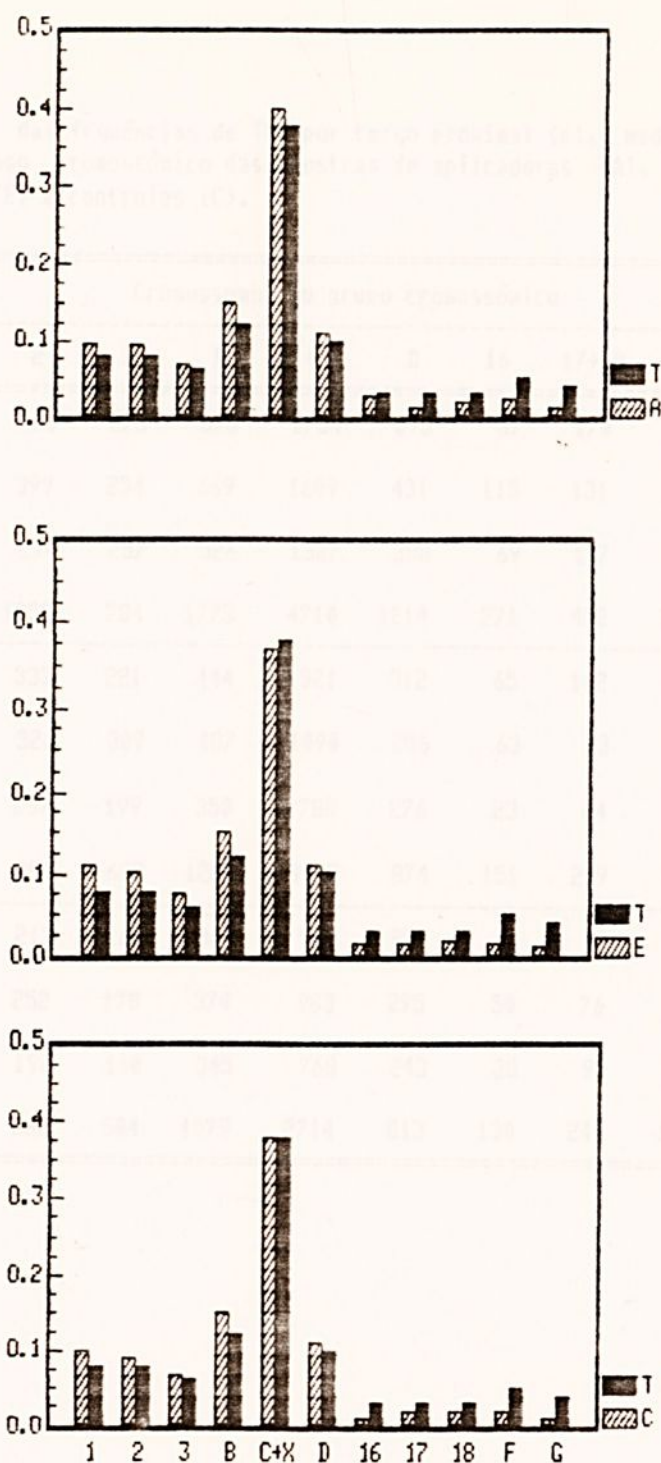


Figura 5. Distribuição das frequências relativas de TCI por cromossomo ou grupo cromossômico nas amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E), controles (C) e a casualmente esperada (T), com base no tamanho relativo dos cromossomos (Paris Conference, 1971).

Tabela 24. Distribuição das frequências de TCI por terço proximal (p), mediano (m) e distal (d), do braço cromossômico das amostras de aplicadoras (A), enfermeiras não-aplicadoras (E) e controles (C).

Amostra	Região cromossômica	Cromossomos ou grupo cromossômico										Total
		1	2	3	B	C + X	D	16	17+18	F	G	
A	p	374	366	273	578	1734	395	87	174	75	51	4107
	m	420	399	254	669	1609	431	115	131	137	69	4234
	d	282	294	257	526	1367	308	69	127	75	52	3437
	Total	1076	1059	784	1773	4710	1214	271	432	287	172	11778
E	p	314	333	221	444	1321	312	65	112	34	31	3187
	m	327	326	309	487	1090	286	63	93	85	32	2998
	d	246	237	199	350	788	276	23	84	23	31	2257
	Total	887	896	629	1281	3199	874	151	289	142	94	8442
C	p	237	213	166	360	963	275	42	83	31	28	2398
	m	267	252	178	374	983	295	50	76	36	26	2531
	d	185	198	160	345	768	243	38	90	47	21	2095
	Total	689	663	504	1079	2714	813	130	249	114	69	7024

Tabela 25. Valores de qui-quadrado para comparação das frequências de TCI entre as diferentes regiões cromossômicas em cada amostra. G.L.=1; $*=P<0,05$; $ns=P>0,05$.

Amostra	Regiões	qui-quadrado	
A	p x m	1,9	ns
	p x d	59,5	*
	m x d	82,8	*
E	p x m	5,8	ns
	p x d	158,9	*
	m x d	104,5	*
C	p x m	3,6	ns
	p x d	33,2	*
	m x d	41,1	*

IV. DISCUSSÃO

Os efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos dos agentes antineoplásicos foram comprovados em vários estudos, como já revisto na Introdução. Em relação à mutagenicidade, a maioria deles induz aberrações cromossômicas em testes *in vitro* e em indivíduos terapeuticamente expostos, e muitos induzem frequências aumentadas de TCI (Tabelas 1 a 5). No entanto, a pesquisa dos efeitos mutagênicos de antineoplásicos em indivíduos a eles profissionalmente expostos, objeto desta investigação, foi menos frequente e sem resultados concordantes.

Neste estudo foram encontradas frequências elevadas de aberrações cromossômicas e de trocas entre cromátides-irmãs em enfermeiras aplicadoras de antineoplásicos, significativamente diferentes das frequências da amostra controle e da amostra de enfermeiras com atuação em outras áreas.

Os resultados de outros autores são resumidos nas Tabelas 26 e 27. Na primeira agruparam-se as pesquisas que avaliaram a mutagenicidade em testes com sistemas microbianos, como a indução de mutações em *Escherichia coli* e em *Salmonella typhimurium* (teste de Ames), por componentes excretados pela urina de indivíduos expostos, e na segunda as que realizaram testes citogenéticos em células dos próprios indivíduos expostos. Nesses estudos, as amostras expostas a antineoplásicos, foram formadas por enfermeiros ou químicos, farmacêuticos, técnicos e assistentes de laboratórios, e foram comparadas com um ou mais dos seguintes grupos: controles, constituídos por indivíduos não-expostos a agentes químicos ou



Tabela 26. Avaliação de mutagenicidade por metabólitos excretados pela urina de aplicadores de antineoplásicos em sistemas microbianos (*Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*).

Referência	Local do estudo	Agente antineoplásico	No. de indivíduos	Pro- tegao	Resul- tado
FALCK et al., 1979	Helsinki, Finlândia	CCNU, CF, BLM, DC, DX, LM, VCR	7		+
STAINO et al., 1981	Maryland, USA	Act-D, BLM, CF, DN, DX, 5-FU, MTX, VCR	8	V	-
ANDERSON et al., 1982	Texas, USA	diversos	6	H, L, M L, M, V	+ -
BOS et al., 1982	Nymegen, Holanda	CCNU, CF, cis-Pt, DR, DX, 6-MP	32		+
NGUYEN et al., 1982	Texas, USA	CF, cis-Pt, DC, DX, IF, 6-MP	6	H V	+ -
GIBSON et al., 1984	Londres, Inglaterra	CF, cis-Pt, DX, ET, L-aspar, MTX, TP	2		-
BARALE et al., 1985	Milano, Itália	Ara-C, CF, DC, 5-FU, MCT, MTX, VCR, VD, VLB	21	L, M	-
BENHAMOU et al., 1986 e COURTOIS et al., 1987	Paris, França	CF, cis-Pt, DC, DX, 5-FU, VCR, VD	30		+
POHLOVA et al., 1986	Praga, Checoslováquia		38		+
STUCKER et al., 1986	Paris, França	CF, cis-Pt, ET, 5-FU	17		+
CAUDELL et al., 1988	Los Angeles, USA	Ara-C, BS, CF	8	L	+
POYEN et al., 1988	Marseille, França	ADM, BLM, CF, cis-Pt, ET, MTX, VCR	29	L, M, V	-

* ADM = adriamicina; Act-D = actinomicina-D; Ara-C = citosina arabinosídeo; BS = bussulfan; BLM = bleomicina; CCNU = lomustina; CF = ciclofosfamida; cis-Pt = cisplatina; DC = dacarbazina; DN = daunomicina; DR = daunorrubicina; DX = doxorubicina; ET = etoposide VP-16; 5-FU = 5-fluorouracil; IF = isofosfamida; L-aspar = L-asparaginase; MCT = meclorotamina; 6-MP = 6-mercaptopurina; MTX = metotrexato; TP = teniposide; VCR = vincristina; VD = vindesina; VLB = vimblastina.

** H = câmara de fluxo laminar horizontal; L = luvas; M = máscaras; V = câmara de fluxo laminar vertical.

Tabela 27. Avaliação da mutagenicidade em linfócitos de aplicadores de antineoplásicos pela pesquisa de aberrações cromossômicas (AC) ou de trocas entre cromátides-irmãs (TCI).

Referência	Local de estudo	Agente antineoplásico	No. de indivíduos	Proteção **	Exposição	Resultados	
						AC	TCI
NORPPA et al., 1980	Helsinki, Finlândia	CF, 5-FU, MTX, ADM, cis-Pt	20				+
WAKSVIK et al., 1981	Oslo, Noruega	Act-D, Ara-C, BLH, CF, DC, ET, 5-FU, IF, CCNU, MCT, MM, Proc, TT, VCR	10	L, H	2150 horas	+	+
			11		1070 horas	-	-
STILLER et al., 1983	Berlin, Alemanha	ADM, Ara-C, BLH, CF, cis-Pt, DN, 5-FU, MTX, VCR	9	L, O	2 a 9 anos	-	-
NIKULA et al., 1984	Oulu, Finlândia	CF, DC, DX, 5-FU, MTX, VCR	11		2,5 a 10 anos	+	
BARALE et al., 1985	Milano, Itália	Ara-C, CF, DC, IF, MCT, MTX, VCR, VD, VLB	21	L, H	1 ano		-
JORDAN et al., 1986	Califórnia, USA	Act-D, ADM, Ara-C, BCNU, CF, DC, 5-FU, MTC, MTX, N-lost, SZ, VCR	18	B	4,5 anos		-
POHLOVA et al., 1986	Praga, Checoslováquia	diversos	38		1 a 6 anos	+	+
STUCKER et al., 1986	Paris, França	CF, cis-Pt, ET, 5-FU	16		3 anos e 6 meses	-	-
BENHAMOU et al., 1988	Villejuif, França	CF, cis-Pt, DC, DX, 5-FU, VCR	30		4 anos	-	-
Presente estudo, 1990	São Paulo, Brasil	ADM, Ara-C, BLH, BCNU, CF, cis-Pt, DB, ET, 5-FU, IF, L-aspar, MTC, MTX, TT, VCR, VLB, VP	15	A, L, H, O	2 meses a 15 anos	+	+

* ADM = adriamicina; Act-D = actinomicina-D; Ara-C = aractinomicina-C; BCNU = carmustina; BLH = bleomicina; CCNU = lomustina; CF = ciclofosfamida; cis-Pt = cisplatina; DC = dacarbazina; DN = daunomicina; DB = daunoblastina; DX = doxorubicina; ET = etoposide; 5-FU = 5-fluorouracil; IF = isofosfamida; L-aspar = L-asparaginase; MCT = meclorotamina; MM = mitramicina; MTC = mitomicina; MTX = metotrexato; N-lost = mostarda nitrogenada; Proc = procarbazona; SZ = estreptozotocina; TT = tiotepa; VCR = vincristina; VD = vindesina; VLB = vimblastina.

** A = avental; B = balcão aberto; L = luvas; H = máscaras; O = óculos.

substâncias mutagênicas conhecidas, que exerciam principalmente atividades administrativas, amostras constituídas por enfermeiros e técnicos de laboratório que não manuseavam antineoplásicos, e amostras de pacientes submetidos à quimioterapia. Além disso, os indivíduos de cada amostra geralmente foram agrupados em fumantes e não-fumantes.

A avaliação da mutagenicidade em testes com sistemas microbianos é interessante, pois permite detectar os efeitos dos produtos de conversão metabólica dos compostos introduzidos no organismo. FALCK *et al.* (1979) iniciaram esse tipo de pesquisa, comparando sete enfermeiras expostas aos antineoplásicos, que não eram fumantes, com sete controles não-expostos (psicólogas e secretárias) e oito pacientes submetidos a quimioterapia. A urina das enfermeiras induziu efeitos mutagênicos significativamente mais elevados do que a dos controles, e a amostra de pacientes submetidos à quimioterapia apresentou frequências significativamente mais elevadas que as das enfermeiras.

BOS *et al.* (1982), BENHAMOU *et al.* (1986), POHLOVA *et al.* (1986), STUCKER *et al.* (1986), COURTOIS *et al.* (1987) e CAUDELL *et al.* (1988) obtiveram resultados semelhantes. BOS *et al.* (1982) analisaram uma amostra de 32 indivíduos expostos a antineoplásicos (18 fumantes) e 29 controles (secretárias, recepcionistas), dos quais 16 eram fumantes. A mutagenicidade da urina de enfermeiras fumantes foi significativamente maior do que a dos controles fumantes, porém tal resultado não foi confirmado em indivíduos não-fumantes.

BENHAMOU *et al.* (1986) e COURTOIS *et al.* (1987)



analisaram 30 enfermeiras expostas rotineiramente a agentes antineoplásicos, 10 delas fumantes, e 30 controles pareados por sexo e idade, sete dos quais fumantes, além de sete pacientes sob quimioterapia. Os resultados mostraram aumento significativo de atividade mutagênica da urina das enfermeiras não-fumantes em relação aos controles não-fumantes, e em controles fumantes quando comparados com os não-fumantes. Os pacientes sob tratamento quimioterápico mostraram atividade mutagênica na urina mais elevada que a das outras amostras. Um achado interessante foi a detecção de mutagenicidade significativamente mais elevada em enfermeiras expostas a pelo menos um agente eletrofílico (alquilante) do que nas que só manuseavam agentes não-eletrofílicos.

POHLOVA et al. (1986) verificaram que dos 36 químicos, assistentes de laboratório e outros trabalhadores que manuseavam agentes alquilantes, dos quais 11 eram fumantes e 25 não-fumantes, 23 (64%) apresentaram resultados positivos nos testes de mutagenicidade em amostras de urina, enquanto que em apenas quatro (21%) dos 19 controles constituído de bibliotecárias e secretárias foram encontrados resultados positivos.

STUCKER et al. (1986) encontraram compostos significativamente mais mutagênicos na urina de 17 enfermeiras, que manuseavam antineoplásicos do departamento de pneumologia de um hospital de Paris, do que em 25 enfermeiras do mesmo departamento que não manuseavam tais agentes, mesmo sendo o grupo de enfermeiras expostas, em média, mais jovem e com menor tempo de atuação no departamento do que o grupo controle. Os autores também evidenciaram que a mutagenicidade da urina de indivíduos fumantes foi significativamente maior do que a de não-fumantes, nas duas



amostras.

Além de tentarem quantificar a mutagenicidade na urina de enfermeiras que administravam antineoplásicos, CAUDELL *et al.* (1988) também controlaram algumas variáveis que pudessem afetar o grau de atividade mutagênica da urina, como a dieta alimentar (café, álcool, carne defumada, entre outros) e outros agentes ambientais (vapores de gases e tintas, fumaça provocada pela queima de madeira e cigarros, pesticidas e outros). Eles analisaram sete enfermeiras em três períodos diferentes: no primeiro elas tiveram uma dieta normal, e não houve controle das variáveis ambientais; no segundo foram excluídos da dieta os possíveis mutagênicos, houve o controle das variáveis ambientais e elas ainda não manuseavam os antineoplásicos; no terceiro, houve o controle da dieta e das variáveis ambientais e o manuseio de antineoplásicos. Os resultados mostraram um decréscimo significativo na mutagenicidade após a modificação da dieta alimentar e o controle das variáveis ambientais, e um aumento significativo após o manuseio de antineoplásicos.

Outros autores, entretanto, obtiveram resultados discordantes com o mesmo tipo de teste. STAINO *et al.* (1981) não detectaram atividade mutagênica na urina de oito farmacêuticos que administravam os agentes por via intravenosa, após seu manuseio em câmara de fluxo laminar vertical. Tais indivíduos foram seus próprios controles, isto é, foram investigados também, antes de manipularem os antineoplásicos. GIBSON *et al.* (1984) não detectaram efeitos mutagênicos na urina de duas enfermeiras não-fumantes que manuseavam antineoplásicos sem proteção e em um controle não-exposto, mas o fizeram na urina de um paciente que recebia



doxorrubicina. Diferenças não significativas foram também encontradas por BARALE *et al.* (1985) entre uma amostra de 21 enfermeiras expostas aos antineoplásicos e um controle constituído de 21 indivíduos (20 secretárias e uma cozinheira), sendo que 11 enfermeiras e 11 controles eram fumantes.

Mais recentemente, POYEN *et al.* (1988) compararam 47 profissionais de unidades oncológicas, 29 indivíduos manuseavam antineoplásicos e 18, apenas tinham contato com os agentes, 37 de uma clínica de cardiologia não-expostos aos antineoplásicos e 17 secretárias, também não encontrando diferenças significativas entre eles quanto à mutagenicidade de agentes presentes na urina. Os autores salientaram que a maioria dos indivíduos que manuseava os antineoplásicos utilizava-se de luvas e máscaras, e preparava o medicamento em câmara de fluxo laminar vertical.

As tentativas de interpretação e relacionamento dos resultados das diferentes investigações, resumidas na Tabela 26, com os fatores que poderiam neles interferir, como por exemplo os tipos de compostos utilizados e a natureza e intensidade de exposição, foram infrutíferas. Em praticamente todos os casos foram utilizados conjuntos de antineoplásicos com diferentes mecanismos de ação, os dispositivos de proteção nem sempre foram referidos, e o período de exposição não foi quantificado na maioria dos estudos.

No entanto, resultados interessantes foram obtidos por dois grupos de pesquisadores, ANDERSON *et al.* (1982) e NGUYEN *et al.* (1982). Eles utilizaram o teste de Ames para análise de mutagenicidade de agentes presentes na urina de aplicadores de antineoplásicos e de controles, em duas circunstâncias: após manipulação dos compostos usando luvas e máscaras em câmara de



fluxo laminar com sistema horizontal, ou em câmara de fluxo laminar com sistema vertical. Na primeira situação, foram detectados efeitos mutagênicos que, todavia, não apareceram na segunda situação, evidenciando que o sistema vertical ofereceu maior proteção ao operador. No sistema de fluxo horizontal, após passar pelo filtro absoluto, o ar é lançado na área de trabalho em direção ao operador, enquanto no sistema vertical há uma cortina frontal de ar que isola o interior da área do ambiente externo, e o ar de exaustão abandona a câmara através de um filtro adicional, permitindo uma maior segurança para o operador.

Das doze investigações resumidas na Tabela 26, quatro tiveram resultados negativos, isto é, não detectaram efeitos mutagênicos, em duas os resultados variaram de acordo com o tipo de proteção utilizado pelos indivíduos e em seis os resultados foram positivos. É importante destacar que entre as investigações com resultados positivos, em apenas uma os indivíduos usavam algum tipo de proteção, as luvas, e das quatro com resultados negativos, em apenas uma os indivíduos não usavam proteção. FALCK *et al.* (1979), BOS *et al.* (1982) e POHLOVA *et al.* (1986) não fizeram qualquer referência ao uso de dispositivos de proteção ou sua ausência, tendo-se admitido que os indivíduos por eles analisados não os usavam.

Todavia, os resultados dos testes que se utilizam de células procariontes não podem ser diretamente extrapolados para os organismos eucariontes, devido às amplas diferenças no arranjo do material genético entre esses. Por isso, são muito importantes os testes citogenéticos em células humanas, principalmente dos próprios



indivíduos expostos, e os parâmetros mais comumente analisados são as frequências de aberrações cromossômicas e de trocas entre cromátides-irmãs (NICHOLS, 1973; LATT, 1974b; PERRY & EVANS, 1975; LAMBERT *et al.*, 1978a; NAKANISHI & SCHNEIDER, 1979; SAVAGE, 1980; VAINIO & SORSA, 1983).

A Tabela 27 sumariza os resultados de investigações com essa metodologia. Foram observadas alterações citogenéticas em cinco dos dez estudos, incluindo o presente trabalho, o que, à primeira vista, não permite uma conclusão clara sobre o potencial de mutagenicidade ao qual os profissionais expostos a antineoplásicos estão submetidos. No entanto, essas investigações foram realizadas em países diferentes e com grande variabilidade nas condições de trabalho dos profissionais em análise. Os agentes antineoplásicos manipulados não foram exatamente os mesmos e os períodos de exposição também variaram. Em cinco estudos, os indivíduos usavam algum tipo de proteção, que nem sempre eram coincidentes, e em outros cinco não há relato do seu uso.

NORPPA *et al.* (1980), BARALE *et al.* (1985) e JORDAN *et al.* (1986) estimaram apenas as frequências de TCI. NORPPA *et al.* (1980) estudaram 20 enfermeiras com contato diário com drogas citostáticas, sem a utilização de qualquer tipo de proteção, 10 enfermeiras com atuação em outras unidades do mesmo hospital, 10 indivíduos que trabalhavam em escritório, e quatro pacientes sob quimioterapia realizada principalmente com ciclofosfamida. As frequências médias de TCI por célula foram significativamente mais elevadas nos pacientes sob terapia ($36,8 \pm 0,6$) e nas enfermeiras das unidades oncológicas ($9,4 \pm 0,3$), do que na amostra controle ($8,1 \pm 0,3$). As enfermeiras de outras unidades ($8,7 \pm 0,2$) não



diferiram significativamente das enfermeiras de unidades oncológicas e nem dos controles.

As frequências médias de TCI por célula, encontradas por BARALE *et al.* (1985), não diferiram significativamente entre o grupo exposto a antineoplásicos ($7,7 \pm 0,38$) e o não-exposto ($7,3 \pm 0,24$). Onze enfermeiras e 11 controles eram fumantes, porém os resultados dessa investigação não sugerem qualquer efeito do cigarro. JORDAN *et al.* (1986) compararam 18 enfermeiras que preparavam antineoplásicos três dias por semana, em balcão aberto, e 18 enfermeiras das unidades de obstetrícia e ginecologia, cirurgia, pediatria e urologia, sem contato com estes agentes. Não encontraram diferença significativa no número médio de TCI por célula entre as enfermeiras das unidades oncológicas ($9,5 \pm 1,5$) e as enfermeiras não-expostas ($9,3 \pm 1,7$).

Pesquisando apenas a ocorrência de aberrações cromossômicas, NIKULA *et al.* (1984) analisaram 11 enfermeiras que manuseavam antineoplásicos, 11 secretárias e cinco técnicos de laboratório. As enfermeiras expostas apresentaram quebras cromossômicas significativamente mais frequentes do que as das outras duas amostras, com um grande número de fragmentos acêntricos. As frequências de quebras cromatídicas não diferiram nos três grupos.

Nas demais investigações que constam da Tabela 27 foram analisadas as frequências de aberrações cromossômicas e de TCI. STILLER *et al.* (1983), STUCKER *et al.* (1986) e BENHAMOU *et al.* (1988) não encontraram frequências significativamente aumentadas de TCI ou de aberrações cromossômicas em profissionais expostos aos



antineoplásicos. Os primeiros autores compararam nove indivíduos (médicos e enfermeiras) que manuseavam antineoplásicos, dos quais dois eram fumantes, com 10 indivíduos que trabalhavam no mesmo hospital e não manuseavam antineoplásicos, dos quais quatro eram fumantes. STUCKER *et al.* (1986) compararam 17 enfermeiras de um departamento de pneumologia expostas a antineoplásicos (oito fumantes) com 25 não-expostas do mesmo departamento (seis fumantes). BENHAMOU *et al.* (1988) compararam 30 enfermeiros (28 mulheres e dois homens), nove dos quais eram fumantes, e 30 indivíduos controle (secretárias), dos quais oito eram fumantes.

Por outro lado, POHLOVA *et al.* (1986) encontraram 3,9% de aberrações cromossômicas na amostra exposta e 1,5% na amostra controle, diferença esta significativa, sendo as quebras os eventos mais frequentemente observados. As diferenças nas frequências de TCI nos dois grupos também foram estatisticamente significativas, o grupo exposto teve uma média de 8,94 TCI/célula e o controle 5,81 TCI/célula. Esses resultados assemelham-se aos obtidos no presente trabalho: as frequências de aberrações cromossômicas (Tabela 9) e de TCI (Tabela 18) na amostra de aplicadores foram maiores que na amostra controle, e a ocorrência de quebras mais frequente do que a de outros eventos (Tabelas 9 e 14).

Os resultados de WAKSVIK *et al.* (1981) diferiram dependendo do tempo de exposição dos profissionais aos antineoplásicos. Foram estudadas 10 enfermeiras, três das quais eram fumantes, que haviam manuseado antineoplásicos em média 2150 horas, usando luvas e máscaras. A amostra controle foi constituída por 10 secretárias que trabalhavam no mesmo hospital. As enfermeiras apresentaram frequências de aberrações cromossômicas

significativamente aumentadas e as falhas foram os eventos mais frequentes. As amostras também diferiram significativamente quanto às frequências de TCI. Após esse estudo, foram selecionadas outras 11 enfermeiras de unidades oncológicas com um tempo médio de exposição menor que o do grupo anterior (1078 horas) e não houve diferença significativa entre esta amostra e o controle, em relação a qualquer dos parâmetros investigados. Entretanto, a segunda amostra de enfermeiras foi examinada seis meses após a divulgação dos resultados da primeira, e é possível que tal informação tenha levado a um maior cuidado durante o manuseio das drogas.

Pode-se notar que, em todas as pesquisas, houve concordância nas conclusões derivadas dos testes que avaliaram a ocorrência de mutações cromossômicas com os que avaliaram a ocorrência de danos no DNA, isto é, onde foram encontradas frequências aumentadas de aberrações cromossômicas, as frequências de TCI também estavam aumentadas. De fato, os resultados das análises de TCI e de aberrações cromossômicas costumam ser concordantes (LATT *et al.*, 1979; RAJ & HEDDLE, 1980; LATT, 1981; GEBHART, 1981; ABE & SASAKI, 1982), mas o teste de TCI parece ser capaz de detectar danos causados por exposição química em concentrações mais baixas (NEVSTAD, 1978).

Em todas as amostras analisadas no presente estudo, as quebras e falhas foram as anomalias estruturais mais comuns, e as quebras foram mais frequentes do que as falhas. As frequências de falhas e quebras espontâneas, descritas na literatura, são variáveis. Algumas vezes as quebras foram referidas como mais frequentes que as falhas (REIDY *et al.*, 1983; FROES, 1985; SILVA,



1985), outras vezes ocorreu o inverso (RICHARDSON *et al.*, 1984; ANDERSON *et al.*, 1988) ou elas apareceram em proporções iguais (KECK & EMERIT, 1979; VICENTINI, 1984). Em relação aos eventos induzidos, as frequências de quebras e falhas também variaram. As quebras foram referidas como mais frequentes por FROES (1985), em células tratadas com frações do extrato de avelãs (*Euphorbia tirucalli*), e por VIEIRA (1986), em células tratadas com a tintura de *Thuya occidentalis*. No entanto, RICHARDSON *et al.* (1984) e VICENTINI (1984) encontraram mais falhas do que quebras em culturas tratadas, respectivamente, com substâncias químicas (dimetilsulfoxido, etanol) e extrato de sementes de barbatimão (*Stryphnodendron obovatum*).

Em estudos para avaliação de efeitos mutagênicos dos antineoplásicos *in vitro*, *in vivo* e em indivíduos terapeuticamente expostos aos antineoplásicos, as frequências de quebras foram em certos casos maiores (ADLER, 1973; NEWSOME & SINGH, 1977; DRESP *et al.*, 1978; GEBHART *et al.*, 1980; MOORE *et al.*, 1987; PSARAKI & DEMOPOULOS, 1988), e em outros menores do que as de falhas (TURNBULL *et al.*, 1979; MILTENBURGER *et al.*, 1980; HEIM, 1985; MANANDHAR *et al.*, 1986). Essa variação pode ser decorrente do tipo do agente químico adicionado à cultura celular nos estudos *in vitro*, ou da natureza da exposição à qual os indivíduos estavam submetidos nos estudos *in vivo*. No entanto, os próprios critérios de classificação dessas anomalias cromossômicas devem contribuir para tal variação, pois a ocorrência de dobramentos ou outros detalhes técnicos, como superposições cromossômicas, resíduos de citoplasma e grau acentuado de contração cromossômica, podem dificultar a classificação correta do evento observado, tornando o julgamento subjetivo.

No presente estudo, não foi possível relacionar a



incidência de quebras com um determinado agente, ou com um grupo de antineoplásicos com tipo de atuação comum, pois as aplicadoras manuseavam diversos agentes, com diferentes mecanismos de ação.

Entre os aplicadores de antineoplásicos foram também encontradas frequências significativamente maiores de eventos anômalos do tipo cromossômico do que do tipo cromatídico. Geralmente, entre as anomalias espontâneas observadas em estudos populacionais ou em controles de experimentos para avaliação de atividade mutagênica, os eventos do tipo cromatídico foram mais frequentes (BIANCHI et al., 1974; MATTEI et al., 1979; MEYNE et al., 1979; BOHLKE et al., 1983 e SINHA et al., 1984), o mesmo acontecendo em relação aos eventos induzidos por alguns antineoplásicos em estudos *in vitro*, *in vivo* e em indivíduos terapeuticamente expostos (HOLDEN et al., 1973; DOBOS et al., 1974; REEVES & MARGOLES, 1974; TAMURA et al., 1974; RATHENBERG, 1975; PROMCHAINANT, 1975 e MEYNE et al., 1979). Entre os estudos com indivíduos ocupacionalmente expostos a antineoplásicos, somente NIKULÁ et al. (1984) relataram uma frequência maior de quebras cromossômicas, as demais investigações não detalharam a análise dessa característica.

Os eventos cromatídicos devem se originar após a fase de duplicação do DNA, quando as cromátides-irmãs já estão individualizadas. Já os eventos cromossômicos devem ser produzidos por alterações pré-duplicativas que não foram reparadas, embora não se possa excluir a possibilidade de um agente afetar, igualmente, ambas as cromátides em certo loco, após a duplicação. Eventos anômalos cromatídicos, se não forem reparados, transformam-se em

eventos cromossômicos na divisão celular seguinte. Portanto, o achado de frequências aumentadas de eventos anômalos do tipo cromossômico, ora verificado entre os aplicadores de antineoplásicos, é sugestivo da ineficácia da ação do sistema de reparo sobre as lesões induzidas por esses agentes, provavelmente em consequência do grande número de lesões ocorrentes.

Um aspecto interessante a ser analisado é a distribuição dos eventos anômalos pelos cromossomos (pares 1, 2, 3, 16, 17 e 18) ou grupos cromossômicos (B, C, D, F e G). A casualidade na distribuição das aberrações cromossômicas foi referida em indivíduos normais por alguns autores (FUNES-CRAVIOTTO *et al.*, 1974, entre outros), mas regiões preferenciais de quebras foram encontradas não só em indivíduos normais (AYME *et al.*, 1976; BARNABEI *et al.*, 1982), em síndromes de instabilidade cromossômica, incluindo anemia de Fanconi (KOSKULL & AULA, 1973; DUTRILLAUX *et al.*, 1977), síndrome de Bloom (SCHROEDER & GERMAN, 1974) e ataxia telangiectasia (COHEN *et al.*, 1975; AL SAADI *et al.*, 1980), ou após exposição a agentes físicos e químicos. Além disso, já é bem conhecida a ocorrência de sítios frágeis, ou seja, de regiões cromossômicas que apresentam susceptibilidade a quebras, sob condições especiais de cultivo (SUTHERLAND & HECHT, 1985).

A ocorrência preferencial de anomalias em determinadas regiões parece estar relacionada com a heterogeneidade da estrutura química do cromossomo. Algumas regiões são mais ricas em determinadas bases nitrogenadas do que outras e agentes que se combinam preferencialmente com algumas delas vão ter pontos preferenciais de ligação. São exemplos o Hoechst 33258 (COMINGS, 1975; LATT & WOHLLEB, 1975), alguns antineoplásicos como a



distamicina-A (ZIMMER *et al.*, 1971; PRANTERA *et al.*, 1979; SCHIMID *et al.*, 1980), a daunomicina (XODO *et al.*, 1988) e todas as antraciclinas, que se ligam às sequências AT, e as actinomicinas e o melfalam, que se ligam às regiões GC (SIEBER & ADAMSON, 1975; CROOKE, 1979; MAMURIS *et al.*, 1989).

Além das propriedades específicas do agente químico, o estado fisiológico das células no momento da exposição ao agente e as propriedades biológicas do sistema de teste utilizado também foram propostas como fatores responsáveis pelas diferenças nos padrões de distribuição intracromossômica de anomalias estruturais (FUNES-CRAVIOTTO *et al.*, 1974). As regiões mais susceptíveis à ocorrência de anomalias cromossômicas estruturais são a região telomérica (KOSKULL & AULA, 1973; SEABRIGHT, 1973; SHADE *et al.*, 1980) e as regiões de constrições secundárias (PALMER, 1970; FUNES-CRAVIOTTO *et al.*, 1974; MEYNE *et al.*, 1979).

Em relação aos antineoplásicos, foi referida maior susceptibilidade dos cromossomos 1, 2, 3, 5 e 7 à ação da aractinomicina (AYRAUD *et al.*, 1976), assim como as regiões de heterocromatina constitutiva dos cromossomos 1, 9 e 16 foram as mais afetadas pela mitomicina C (HOEHN & MARTIN, 1972, 1973; MORAD *et al.*, 1973), as regiões centroméricas dos cromossomos 1, 3, do grupo C e a região distal do cromossomo X foram as mais susceptíveis aos efeitos da distamicina A (PRANTERA *et al.*, 1979), e os cromossomos 5, 7, 11 aos efeitos do melfalam (MAMURIS *et al.*, 1989). O clorambucil induziu quebras preferenciais em 9q11 e 9q13 (12,6% do total de aberrações) e, com menor frequência, em 1p32, 6q21 e 13q14 (REEVES & MARGOLES, 1974).



No presente estudo os cromossomos foram analisados em coloração usual, o que não permitiu a identificação precisa de cada um deles. No entanto, para cada indivíduo, ainda enquanto codificado, comparou-se os pontos de quebra encontrados nos cromossomos, para detectar-se possíveis indícios de coincidência, que recomendassem a utilização de técnicas de bandamento cromossômico na análise. Periodicamente, as metáfases com anomalias de um conjunto de indivíduos também foram comparadas, com o mesmo objetivo. Todavia, só houve indicação de recorrência de quebras ou falhas nas regiões das grandes constricções secundárias. Portanto, apesar dos limites técnicos da análise realizada, acredita-se que não houve ocorrência preferencial de anomalias estruturais, em uma ou mais regiões cromossômicas, em qualquer das amostras analisadas, com exceção das quebras e falhas na região proximal dos aplicadores de antineoplásicos (Tabela 17). Nesse aspecto, ou seja, a susceptibilidade a quebras das regiões de heterocromatina constitutiva evidenciada pelas bandas C, os presentes dados concordam com diversas das publicações anteriormente citadas.

Em estudos que avaliaram indivíduos ocupacionalmente expostos a agentes antineoplásicos, as frequências de TCI variaram de 8,5 a 9,4 TCI/célula nesses e de 5,1 a 8,1 TCI/célula nos controles (NORPPA *et al.*, 1980; WAKSVIK *et al.*, 1981; POHLOVA *et al.*, 1986). Tais variações nas frequências de TCI entre diferentes laboratórios são esperadas, pois, as condições de cultivo como por exemplo, o tipo de meio de cultura e de soro empregado para suplementação (KATO & SANDBERG, 1977; BIANCHI *et al.*, 1979; GHOSH & NAND, 1979; MORGAN & CROSSEN, 1981), assim como a concentração de 5-BrdU utilizada (CARRANO *et al.*, 1980; DAVIDSON *et al.*, 1980; KLIGERMAN *et al.*, 1982), podem induzir diferenças. Outros fatores,

tais como a duração do ciclo celular (SNOPE & RARY, 1979; ABDEL-FADIL *et al.*, 1982), o período de cultivo (BEEK & OBE, 1979; GIULOTTO *et al.*, 1980) e subpopulações de linfócitos T e B (LINDBLAD & LAMBERT, 1981; MILLER, 1986; SANTESSON, 1986) também têm sido relacionados às variações nas frequências de TCI.

As frequências de TCI encontradas nesse estudo foram significativamente maiores na amostra A, em relação às amostras E e C, e a amostra E também diferiu significativamente da amostra C. A distribuição de TCI pelos cromossomos diferiu do esperado casualmente com base no tamanho dos cromossomos, nas três amostras (Tabela 23), principalmente em consequência da alta incidência nos cromossomos do grupo B, de frequências relativamente maiores do que a esperada nos cromossomos 1, 2 e 3 e das frequências reduzidas nos cromossomos dos grupos E, F e G. Frequências elevadas de TCI nos cromossomos maiores e frequências baixas nos cromossomos menores foram encontradas por outros autores (IKUSHIMA & WOLFF, 1974; GEBHART, 1981; NEWMAN *et al.*, 1982; MCNALLY & RAY, 1983; FROES, 1985; VIEIRA, 1986; BECHER & PRESCHER, 1988). Frequências elevadas de TCI em cromossomos do grupo B têm sido relacionadas a uma susceptibilidade preferencial à ação da 5-BrdU (MORGAN & CROSSEN, 1977b) e frequências baixas nos cromossomos dos grupos E, F e G são associadas à escassez de TCI na região pericentromérica, que constitui uma grande parte desses cromossomos (LATT, 1974a). CROSSEN *et al.* (1977) atribuiu a distribuição não-casual de TCI a diferenças na composição de bases ao longo dos cromossomos.

Estudos *in vitro*, mostraram que os antineoplásicos harringtonídeo, aractinomicina-C, metotrexato e vincristina,

induziram frequências de TCI significativamente elevadas, principalmente nos cromossomos do grupo C e secundariamente nos cromossomos do grupo A, em células de medula óssea humana (ZHANG *et al.*, 1988). Já com o antineoplásico elipticina, os resultados obtidos por SAKAMOTO-HOJO (1986) foram semelhantes ao do presente estudo.

Também foi verificado, no presente estudo, que as regiões proximal e mediana foram as mais susceptíveis à ocorrência de TCI. GALLOWAY & EVANS (1975) e GRANATA & EVANS (1981) encontraram maior frequência de TCI geralmente nas regiões medianas, o que concorda em parte com os resultados obtidos neste estudo. Contudo, o critério usado para divisão dos braços cromossômicos em três segmentos foi visual e, por isso, sujeito a falhas, quando a TCI se encontrava próxima ao limite. Portanto, não se pode descartar que a menor frequência de TCI na região distal seja decorrente de subjetividade na classificação. Com relação à ocorrência preferencial de TCI na região proximal, não há achados semelhantes por outros autores.

As variações nas frequências de aberrações cromossômicas e de TCI podem ser relacionadas a diferentes fatores, como o hábito de fumar, a idade, o sexo e o hábito alimentar, além de serem, possivelmente, decorrentes de variabilidade genética.

De modo geral, os indivíduos fumantes, comparados com os não-fumantes, apresentaram frequências maiores de aberrações cromossômicas estruturais (OBE *et al.*, 1982; NAKAYAMA *et al.*, 1985; LITTLEFIELD & JOINER, 1986), de TCI (LAMBERT *et al.*, 1978b; HUSGAFVEL-PURSIAINEN *et al.*, 1980; HUSUM *et al.*, 1982; OBE *et al.*, 1982; NAGAYA e TORIUMI, 1985), ou de sítios frágeis e TCI (KAO-SHAN *et al.*, 1987). Por essas razões, na presente investigação só foram

incluídos não-fumantes. Entre os aplicadores de antineoplásicos que eram fumantes, frequências significativamente elevadas de aberrações cromossômicas e TCI foram referidas por BOS *et al.* (1982) e por BENHAMOU *et al.* (1988), mas não por WAKSVIK *et al.*, (1981) e BARALE *et al.* (1985).

A idade e o sexo são também variáveis potencialmente relacionadas com as frequências de TCI e de aberrações cromossômicas. Apesar de não haver total concordância entre os autores, frequências de TCI e aberrações cromossômicas significativamente maiores em mulheres do que em homens foram relatadas em diversos estudos (HEDNER *et al.*, 1982; ANDERSON *et al.*, 1988; BENDER *et al.*, 1989). Não parece haver correlação entre frequência de TCI e idade (MORGAN & CROSSEN, 1977; NAGAYA & TORIUMI, 1985), mas em indivíduos mais idosos foram encontradas frequências significativamente maiores de aberrações cromossômicas estruturais do que em jovens (HEDNER *et al.*, 1982; OIKAWA *et al.*, 1984). As associações positivas referidas de idade e sexo foram também significativas quando esses fatores foram associados com o hábito de fumar. Com o objetivo de reduzir possível variabilidade decorrente de sexo e idade, no presente estudo os indivíduos foram pareados em relação a tais características.

Outro fator de variabilidade entre os indivíduos são os hábitos alimentares. WULF *et al.* (1986) relataram frequências de TCI menores em um grupo de adventistas ovo-lacto-vegetarianos, que não tomavam café, chá ou bebidas alcoólicas e não fumavam, comparados com indivíduos saudáveis, não-fumantes e sem alimentação especial, pareados por sexo, idade e profissão. Os indivíduos ora analisados referiram, em entrevista inicial, não terem hábitos

alimentares especiais.

No entanto, apesar das tentativas de minimização das fontes de variabilidade, as frequências de TCI e de aberrações cromossômicas variaram significativamente entre as amostras, e também dentro das amostras. As diferenças detectadas entre as amostras sugerem o efeito dos antineoplásicos nas aplicadoras, assim como o de outros compostos nas enfermeiras não-aplicadoras, esse só detectado com a análise de TCI, que é um teste mais sensível. As enfermeiras não-aplicadoras de antineoplásicos, dentro da rotina hospitalar, estão sujeitas a outros compostos químicos mutagênicos, como anestésicos, solventes e esterilizantes.

As diferenças dentro da amostra de aplicadores podem refletir variações individuais, tipo de agente químico manuseado, e intensidade da exposição avaliada pelo tempo de exposição e pelos dispositivos de proteção utilizados. No entanto, não foi possível relacionar as frequências de aberrações cromossômicas e de TCI com o tipo de antineoplásico manuseado, pois as aplicadoras manipulavam conjuntos de diferentes tipos de agentes, em tempos de exposição diferentes. Não se detectou correlação entre o tempo de exposição aos antineoplásicos e as frequências de aberrações cromossômicas ou de TCI. Duas frequências das mais elevadas de aberrações cromossômicas (indivíduos A8 e A9) e de TCI (A7 e A9) e duas frequências das mais baixas (indivíduos A1 e A15 para aberrações cromossômicas, A2 e A12 para TCI) foram encontradas em aplicadores com os menores tempos de exposição. Contudo, há indivíduos com tempos de exposição longos e frequências de aberrações cromossômicas (A3, A4) e de TCI (A6) relativamente mais altas que



outros com menores tempos de exposição (A6 para aberrações cromossômicas e A7 para TCI). CAUDELL et al. (1988) também não encontraram correlação significativa entre o número de dias em que as enfermeiras manuseavam antineoplásicos e a mutagenicidade obtida da urina.

A variabilidade de resposta encontrada na amostra de aplicadores de antineoplásicos poderia ser explicada pelas diferenças individuais no metabolismo, armazenamento e excreção desses agentes químicos e no sistema de reparo às lesões do DNA por eles induzidas. A avaliação desses fatores não pôde ser feita na presente investigação. Por outro lado, os hábitos de trabalho e as técnicas de manipulação dos antineoplásicos, assim como os dispositivos de proteção usados, são os fatores responsáveis pela absorção desses agentes por cada indivíduo (KLEINBERG & QUINN, 1981; WAKSVIK et al., 1981; WILSON & SOLIMANDO, 1981; ANDERSON et al., 1982; NGUYEN et al., 1982; JORDAN et al., 1986) e devem ter grande importância. Nesta investigação não foi possível associar a frequência de TCI e de aberrações cromossômicas com os dispositivos de proteção utilizados, pois indivíduos que usaram meios de proteção mais efetivos (A8, A9) apresentaram frequências maiores do que outros que usaram apenas um dispositivo de proteção (A11, A12).

As medidas de proteção para o manuseio dos antineoplásicos, os melhores protocolos a serem usados e a necessidade de treinamento do pessoal que prepara e aplica esses agentes têm sido amplamente enfatizados (CARTWRIGHT, 1980; DAVIS, 1981; BESHARAH, 1982; D'ARCY, 1983; JONES et al., 1983; SCOTT et al., 1983; STOLAR & POWER, 1983; STOLAR et al., 1983; GOODMAN, 1984; FORST, 1985; KLENER, 1985; YODAIKEN & BENNETT, 1986).

Os agentes antineoplásicos são, geralmente, dissolvidos e trocados de frasco antes de serem administrados aos pacientes. Assim, os aerossóis gerados por essas atividades podem ser absorvidos por inalação ou por contato direto com a pele, se não forem usados cuidados especiais (KNOWLES & VIRDEN, 1980; KLEINBERG & QUINN, 1981; NEAL *et al.*, 1983; EVANS, 1985). Para eliminar, ou pelo menos minimizar de forma significativa a exposição aos antineoplásicos, sugere-se que o trabalho seja desenvolvido em áreas ventiladas, com uso de máscaras plásticas, óculos especiais, luvas cirúrgicas de borracha e roupas apropriadas para proteção da pele, como o avental de laboratório de mangas longas (THOMSON & MIKKELSEN, 1975; CRUDI, 1980; ZIMMERMAM *et al.*, 1981; THOMPSON, 1982; NEAL *et al.*, 1983; AVIS & LEVCHUCK, 1984; CONNOR *et al.*, 1984; LAIDLAW *et al.*, 1984; FISCHER, 1986; YODAIKEN & BENNET, 1986).

Os autores propõem que a orientação aos indivíduos que manuseiam os antineoplásicos inclua a revisão da literatura sobre todos os efeitos que esses agentes podem causar, a discussão e explicações de todas as dúvidas. O treinamento deve, ainda, abranger todos os esclarecimentos relativos ao uso apropriado dos dispositivos e equipamentos de proteção e os detalhes técnicos para o manuseio dos compostos, como a ruptura das ampolas com auxílio de gaze estéril, a introdução dos diluentes nos frascos ou ampolas vagarosamente e o firme encaixe das agulhas nas seringas (HITCHINGS *et al.*, 1983).

Os cuidados pessoais são igualmente valorizados: as mãos devem ser lavadas com água e sabão repetidas vezes após o manuseio dos antineoplásicos, e o mesmo deve ocorrer se esses agentes forem



derramados em qualquer outra região do corpo. Toda a área onde são preparados e administrados os antineoplásicos deve ser bem lavada com detergente e água, e esterilizada com álcool isopropil 70% (HOFFMAN, 1980; WILSON & SOLIMANDO, 1981; EVANS, 1985; BERG, 1987). Os materiais contaminados devem ser manuseados com luvas de borracha ou polietileno e inutilizados por incineração ou em soluções neutralizadoras como hipoclorito de sódio, hidróxido de sódio, permanganato de potássio, fosfato trisódico e ácido sulfúrico (BACOVISKY, 1980; HOFFMAN, 1980; KNOWLES e VIRDEM, 1980; STOLAR *et al.*, 1983; JOHNSON & JANOSIK, 1989).

Nas salas onde os antineoplásicos são preparados, estocados ou usados, e nas áreas próximas, não se deve fumar, comer, beber ou aplicar cosméticos, pois tais atividades aumentam a exposição aos antineoplásicos (ZIMMERMAN *et al.*, 1981; STOLAR *et al.*, 1983). Além disso, para que o profissional tenha melhor proteção, muitos autores recomendaram que a manipulação se dê em câmara de fluxo laminar vertical e não nas de fluxo laminar horizontal (DONNER, 1978; GOUSSE *et al.*, 1981; ZELLMER, 1981; HITCHINGS *et al.*, 1983; AVIS & LEVCHUCK, 1984; HELGERSON & WILLIAMS, 1984; HOY & STUMP, 1984; OAKLEY & REEVES, 1984; BARHAMAND, 1986; FISCHER, 1986).

Os estudantes, residentes e médicos também devem ser informados dos procedimentos utilizados para o preparo, administração e remoção dos resíduos dos antineoplásicos. O conhecimento e competência de todo o pessoal envolvido com os antineoplásicos devem ser periodicamente avaliados e documentados, e ninguém deve ser autorizado a preparar ou administrar qualquer antineoplásico sem que tenha recebido as instruções adequadas sobre



o seu preparo e uso correto.

Além disso, como as excretas de pacientes sob tratamento contêm altas concentrações de antineoplásicos ou seus metabólitos (SIEBERT & SIMON, 1973; JUMA *et al.*, 1978; VENITT *et al.*, 1984; HARRIS & DODDS, 1985; COLLS, 1985), o pessoal responsável pela limpeza e lavagem de materiais também está sujeito ocupacionalmente aos riscos dos antineoplásicos. Desse modo, os cuidados devem ser estendidos a esses profissionais, assim como aos familiares de pacientes que estão sob tratamento em casa (RUBADUE, 1985; BARHAMAND, 1986).

Estes são os cuidados sugeridos pelos especialistas. No entanto, na prática, a situação ainda não é controlada. TORTORICI (1980) destacou a inadequação das condições encontradas em hospitais americanos, que ainda foram encontradas anos após em alguns locais, como em Chicago (NEAL *et al.*, 1983), mas foram satisfatoriamente modificadas em outros, nos quais passou a haver protocolos de medidas de proteção para preparação e administração dos antineoplásicos, programas de tratamento, uso de câmara de fluxo laminar vertical e monitorização, pelo teste de Ames, da mutagenicidade dos produtos excretados pela urina dos profissionais (LEROY *et al.*, 1983).

Em alguns países, como os Estados Unidos, apesar de nem todos os cuidados e procedimentos relativos aos antineoplásicos estarem sendo seguidos à risca, há um progressivo avanço quanto à preocupação com tais medidas de segurança, sendo frequentes as publicações que avaliam as condições encontradas em hospitais ou conjuntos de hospitais e clínicas (EDDLEMON *et al.*, 1984; FRIEDMAN



et al., 1984; JOHNSON & WALKER, 1984; MOODY, 1984; SCOTT, 1984; STELLMAN et al., 1984; CASELNOVA III et al., 1985; STAJICH et al., 1986; COHEN et al., 1987; GREGOIRE et al., 1987). Em outros países, incluindo o Brasil, parece que não há muitas preocupações nesse sentido, não tendo sido encontradas pesquisas que avaliassem os procedimentos e cuidados com tais agentes.

Os indivíduos da amostra de aplicadores, investigados no presente estudo, atuavam em unidades oncológicas de quatro hospitais. Em uma delas os profissionais referiram o uso de aventais, luvas, máscaras e óculos durante o preparo dos antineoplásicos, em duas delas referiram o uso de luvas e na outra alguns aplicadores referiram usar aventais, luvas e máscaras, enquanto um deles admitia não fazer uso de qualquer proteção. No entanto, certos aplicadores foram surpreendidos durante o trabalho sem os dispositivos de proteção que referiram usar na entrevista inicial, o que evidencia que esses cuidados eram eventuais.

Durante a coleta dos dados desta investigação, em nenhum dos hospitais os antineoplásicos eram preparados em câmara de fluxo laminar vertical, os dispositivos de proteção não eram do tipo mais adequado e os aplicadores não tinham recebido treinamento e orientação específica para tal atividade. No entanto, as enfermeiras-padrão, com formação profissional de nível superior, apresentaram frequências de metáfases anômalas significativamente menores do que as auxiliares e atendentes de enfermagem, que não tinham formação universitária.

Em conclusão, os resultados ora obtidos, em conjunto com as informações científicas disponíveis permitem que se considere a amostra de aplicadores de antineoplásicos em análise como um grupo

de risco elevado para ocorrência de mutações cromossômicas e lesões no DNA, e indicam a necessidade de que sejam mais rigorosamente observadas as regras de segurança previstas para o manuseio desses agentes.



V. RESUMO E CONCLUSÕES

A importância terapêutica dos antineoplásicos é indiscutível e atualmente um número muito grande deles vem sendo intensamente utilizado. No entanto, como muitos desses compostos são mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos em estudos *in vitro*, em animais de laboratório e em pacientes terapeuticamente expostos, tem surgido uma preocupação quanto à exposição ocupacional a tais agentes por parte do corpo técnico paramédico e dos médicos oncologistas que os manuseiam. Por isso, foi proposto o presente trabalho, que visou investigar a ocorrência de alterações cromossômicas em linfócitos de profissionais expostos aos antineoplásicos em hospitais de São José do Rio Preto e outras cidades do estado de São Paulo, como forma de monitorizar os efeitos biológicos da exposição ocupacional.

O estudo cromossômico foi realizado em 45 indivíduos do sexo feminino, agrupados em três amostras: amostra A, composta por 15 enfermeiras expostas ocupacionalmente a antineoplásicos, amostra E, formada por 15 enfermeiras não manipuladoras de antineoplásicos, e amostra C, constituída por 15 mulheres que exerciam atividade profissional não relacionada com exposição a agentes químicos. Os agentes antineoplásicos mais frequentemente manuseados foram a adriamicina, aractinomicina-C, bleomicina, ciclofosfamida, cisplatina, carmustina, daunoblastina, etoposide, 5-fluorouracil, isofosfamida, L-asparaginase, metotrexato, mitomicina-C, tiotepa, vepeside e vimblastina. O tempo de exposição à esses agentes variou de três meses a 15 anos. Os dispositivos de proteção foram:



luvas, usadas por seis enfermeiras; aventais, luvas e máscaras, usadas por seis enfermeiras; e aventais, luvas, máscaras e óculos, usados por duas enfermeiras. Uma aplicadora não usava qualquer dispositivo de proteção.

Nenhum dos indivíduos estudados era fumante, todos eram saudáveis, com dieta alimentar usual, não consumiam bebida alcoólica, não tinham recebido radiação, feito uso de medicamentos ou contraído doença viral próximo dos testes aplicados neste estudo.

Os linfócitos foram cultivados em meio RPMI 1640 (Cultilab) enriquecidos com 20% de soro AB humano, penicilina e estreptomicina, e estimulados por fitohemaglutinina M. A colquicina foi adicionada uma hora antes da fixação com metanol: ácido acético. Os linfócitos foram cultivados por 72 horas e corados com solução de Giemsa a 2% para análise de aberrações cromossômicas (coloração usual). Para análise de TCI foi adicionada a 5-BrdU (Sigma) na concentração final de 10 $\mu\text{g/ml}$ e as lâminas foram cobertas com Hoechst 33258 (Sigma) na concentração de 0,05 $\mu\text{g/ml}$, incubadas em NaH_2PO_4 1 M (pH 8,1 a 8,3) à 37°C e coradas com solução a 2% de Giemsa.

Foram analisadas 100 metáfases de cada indivíduo com coloração usual e 50 com coloração diferencial entre as cromátides. Foram encontradas 8,3% de metáfases com aberrações cromossômicas na amostra A, 2,5% na amostra E e 2,3% na amostra C, sendo detectadas diferenças estatisticamente significativas ($F=19,01$; $P<0,05$) entre as amostras. A amostra A apresentou frequências de aberrações cromossômicas maior que as amostras E e C, e estas não diferiram entre si. As anomalias mais comumente encontradas foram quebras e falhas, cromatídicas e cromossômicas, sendo a incidência de quebras



maior que a de falhas nas três amostras. Na amostra A a frequência de quebras do tipo cromossômica é maior do que a tipo cromatídica ($Z=3,50$; $P<0,05$). Foram também encontradas, em baixas frequências, anomalias numéricas, como trissomias e cromossomo marcador e outras anomalias estruturais, como fragmentos acêntricos, deficiências, translocações, "double minutes" e cromossomos com braços aumentados. Os eventos anômalos geralmente foram únicos em cada metáfase. A região proximal foi a mais susceptível às anomalias na amostra A ($\chi^2=36,85$; G.L.=2; $P<0,05$).

As frequências médias de TCI por célula foram de $15,71 \pm 3,79$ na amostra A, $11,24 \pm 1,97$ na amostra E e $9,26 \pm 1,92$ na amostra C. A comparação dessas frequências por análise de variância mostram diferenças significativas ($F=22,16$; $P<0,05$), sendo a frequência média de TCI na amostra A maior que a da amostra E e ambas maiores que a da amostra C. Encontrou-se também uma ampla variabilidade interindividual entre as amostras, detectando-se diferenças significativas entre os indivíduos da amostra A ($F=42,05$; $P<0,05$), da amostra E ($F=15,46$; $P<0,05$) e da amostra C ($F=17,92$; $P<0,05$) e é na amostra A que essas diferenças são maiores.

Nas sete profissionais da amostra A com formação universitária, foram encontradas frequências significativamente menores de metáfases anômalas (6,1%) do que nas oito que tinham formação técnica ou somente prática (10,1%), mas ainda significativamente maiores do que as das amostras E e C.

As frequências de TCI são maiores nas regiões cromossômicas proximal e mediana e a distribuição dessas frequências por cromossomo ou grupo cromossômico não é casual nas três amostras,

sendo que os cromossomos dos grupos A e B têm frequências maiores e os dos grupos E, F e G têm frequências menores que as esperadas.

Não se detectou correlação entre as frequências de aberrações cromossômicas e de TCI e o período de exposição ao qual os aplicadores de antineoplásicos estavam submetidos ou os dispositivos de proteção utilizados. Não foi possível, também, comparar as frequências de aberrações cromossômicas e de TCI com os tipos de antineoplásicos manuseados, pois as aplicadoras usavam vários agentes, com mecanismos de ação diferentes.

Os resultados obtidos evidenciam pertencer a amostra A a um grupo de risco para a ocorrência de aberrações cromossômicas e de frequências elevadas de TCI e indicam, portanto, a necessidade de que sejam mais rigorosamente observadas as regras de segurança previstas para o manuseio dos antineoplásicos.

VI. SUMMARY

Many cytostatic drugs have been used in cancer chemotherapy and a great number of them have been shown to be mutagenic, carcinogenic, and teratogenic in laboratory animals, *in vitro* studies or in therapeutically exposed patients. Recent studies have suggested the possibility of an occupational health hazard among hospital personnel involved in the preparation and administration of these compounds. This situation prompted us to perform a cytogenetic study on lymphocytes of nurses handling cancer chemotherapeutic agents, as an attempt to verify the risk of occupational exposure in several hospital in São José do Rio Preto and other cities in São Paulo State.

The chromosome analyses were performed in 45 females grouped in three samples: the occupationally exposed (sample A) and the reference samples E and C. Sample A included 15 nurses exposed from 3 months to 15 years to antineoplastic drugs. The most frequently handled drugs included adriamycin, aractinomycin-C, bleomycin, cyclophosphamide, cisplatin, carmustine, daunoblastine, etoposide, 5-fluorouracil, isophosphamide, L-asparaginase, metotrexate, mitomycin-C, tiotepa, vepesid and vimblastine. The protective measures used to handle the cytostatic drugs were gloves (6 individuals), gloves+masks+smock (6 individuals) gloves+masks+smock+glasses (2 individuals); no safety protocol (1 individuals). Sample E, including 15 nurses working in other hospital units, was selected for one control group. An additional control group; sample C, included 15 office clerks, librarians and housekeepers. All the subjects were healthy and free of virus disease when the blood sample was drawn. They did not



report roentgenographic examinations or therapeutic irradiation. None was found to have any special diet, smoking or drinking habits, or any non-occupational exposure to known mutagens.

Lymphocyte cultures were grown in RPMI 1640 (Cultilab) medium, supplemented with 20% AB human serum, antibiotics, and stimulated by phytohemagglutinin M. Colchicine was added 1 hour prior to methanol: acetic acid fixation. The cultures were harvested at 72 hours. For the study of chromosome damage, the air-dried chromosome preparations were stained in 2% Giemsa. One hundred metaphases were selected from each subject and scored for breaks, gaps and exchanges. For the analyses of sister chromatid exchange (SCE), 5-bromo-2'-deoxyuridine (Sigma) was added at final concentration of 10 $\mu\text{g/ml}$. The slides were stained for 15 min in Hoechst 33258 (Sigma) in a concentration of 0.05 $\mu\text{g/ml}$, incubated in 1 M NaH_2PO_4 (pH 8.1-8.3) at 87° C, and stained in 2% Giemsa. SCE were counted in 50 cells from each subject. Chromosome analyses were made blindly within each of the two sequences of the study.

Sample A had a highly significant average rate of metaphase with aberrant chromosomes (8.3%), compared with samples E (2.5%) and C (2.3%) ($F=19.01$; $P<0.05$). Chromatid and chromosome gaps or breaks were the most frequent anomalies and breaks were more frequent than gaps in all samples. Chromosome-type anomalies were more frequent than chromatid-type in sample A. Acentric fragments, deletions, translocations and double minutes were some other structural aberrations found; marker chromosome and trisomies were numerical anomalies found. Each aberrant cell usually contained only one abnormal chromosome. The anomalies seemed to be non-randomly located along the chromosomes, and the proximal region was slightly



more susceptible to breaks within the occupationally exposed females.

The nurses exposed to antineoplastic agents had on average 15.71 ± 3.79 SCE/cell, sample E had 11.24 ± 1.97 and control sample C 9.26 ± 1.92 . The difference among the groups was statistically significant ($F=22.16$; $P<0.05$). SCE seemed to be non-randomly distributed along the chromosomes, the proximal and intermediate chromosome regions are were susceptible to occurrence of SCE than the distal region. Also, SCE seemed to be non-randomly distributed along the karyotype: chromosomes of groups A and B have more SCE than expected, and chromosomes of groups E, F and G have less than expected.

Significantly decreased frequencies of chromosome abnormalities were found in the 7 undergraduated (6.1%) nurses comparing to the 8 nurses without undergraduated formation (10.1%) but even the lower values are significantly higher than those in the reference samples ($F=5.07$; $P<0.05$).

Marked interindividual variation in chromosome aberrations and SCE/cell could be seen in all samples, mainly in sample A. Hence no correlation was found between time of exposure or protective equipment and the frequency of aberrant metaphases or SCE/cell in individual cases. The wide variation of the handled agents made it impossible to associate the cytogenetic results and the antineoplastic agents.

Our findings indicate that the occupational exposure to cytostatic agents may cause an increase in chromosome aberrations and SCE frequency. Therefore, protective measures and care in the handling of antineoplastic agents must be further emphasized.



V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABDEL-FADIL, M.; PALMER, C.; HEEREMA, N. Effect of temperature variation on sister-chromatid exchange and cell-cycle duration in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.*, **104**: 267-273, 1982.
- ABE, T. & MISAWA, S. Cancer chemotherapy and the development of secondary leukemia. *Acta Haematol. Jpn.*, **48**: 1843-1856, 1985.
- ABE, S. & SASAKI, M. SCE as an index of mutagenesis and/or carcinogenesis. In: Sandberg, A.A., ed. *Sister Chromatid Exchange*. New York, Allan R. Liss, 1982. p. 100-105.
- ABE, T.; TSUDA, S.; MAEKAWA, T.; TANIWAKI, M.; SONODA, Y.; IDE, T.; MISAWA, S.; TAKINO, T.; INOUE, K. Sister chromatid exchanges induced by cancer chemotherapeutic agents *in vitro* and *in vivo*: consideration of the hazard of drugs as possible mutagens and carcinogens causing second malignancies. *Cancer Treat. Rep.*, **69**(5): 505-514, 1985.
- ABRAHAM, S.K. & FRANZ, J. Induction of sister-chromatid exchanges by chemotherapeutic drugs in spermatogonia of mice: effects of procarbazine, adriamycin, cyclofosphamide and mitomycin C. *Mutat. Res.*, **108**: 373-381, 1983.
- ADATIA, A.K. Effects of cytotoxic chemotherapy on dental development. *J. Royal Soc. Med.*, **80**: 784-785, 1987.
- ADLER, I.D. Cytogenetic effect of mitomycin C on mouse spermatogonia. *Mutat. Res.*, **21**: 20-21, 1973.
- AL SAADI, A.; PALUTKE, M.; KUMAR, G.K. Evolution of chromosomal abnormalities in sequential cytogenetic studies of ataxia telangiectasia. *Hum. Genet.*, **55**: 23-29, 1980.
- ANDERSON, H.C.; TRANBERG, E.A.; VGGLA, A.H.; ZETTERBERG, G. Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges in lymphocytes of men occupationally exposed to styrene in a plastic boat factory. *Mutat. Res.*, **73**: 387-401, 1980.
- ANDERSON, R.W.; PUCKETT, W.H.; DANA, W.J.; NGUYEN, T.U.; THEISS, J.C.; MATNEY, T.S. Risk of handling injectable antineoplastic agents. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **39**: 1881-1887, 1982.
- ANDERSON, D.; JENKINSON, P.C.; DEWDNEY, R.S.; FRANCIS, A.J.; GODBERT, P.; BUTTERWORTH, K.R. Chromosome aberrations, mitogen-induced blastogenesis and proliferative rate index in peripheral lymphocytes from 106 control individuals of the U.K. population. *Mutat. Res.*, **204**: 407-420, 1988.



- AVIS, K.E. & LEVCHUCK, J.W. Special considerations in the use of vertical laminar flow workbenches. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **41**: 81-87, 1984.
- AYME, S.; MATTEI, J.F.; MATTEI, M.G.; AURRAN, Y.; GIRAUD, F. Nonrandom distribution of chromosome breaks in cultured lymphocytes of normal subjects. *Hum. Genet.*, **31**: 161-175, 1976.
- AYRAUD, N.; CANTRELLE, C.; LLYOD, M. Distribution des points de cassure chromosomique induits par L'arabinosyl cytosine sur des lymphocytes humains *in vitro*. *Ann. Génét.*, **19**(1): 29-35, 1976.
- BABAYA, K.; TAKAHASHI, S.; MOMOSE, H.; MATSUKI, H.; SASAKI, K.; SAMMA, S.; OZONO, S.; HIRAO, Y.; OKAJIMA, E. Effects of single chemotherapeutic agents on development of urinary bladder tumor induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) in rats. *Urol. Res.*, **15**: 329-334, 1987.
- BABICH, H.; DEVANAS, M.A.; STOTZKY, G. The mediation of mutagenicity and clastogenicity of heavy metals by physicochemical factors. *Environ Res*, **37**(2): 253-286, 1985.
- BACOVSKY, R. Disposal of hazardous pharmaceuticals. *Canadian J. Hosp. Pharm.*, **XXXIV**(1): 12-13, 1981.
- BAGLIN, T.P.; GALVIN, G.P.; POLLOCK, A. Therapy-related acute nonlymphocytic leukemia with inversion of chromosome 16 and a sustained remission. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **27**: 167-169, 1987.
- BANERJEE, A. & BENEDICT, W.F. Production of sister chromatid exchanges by various cancer chemotherapeutic agents. *Cancer. Res.*, **39**: 797-799, 1979.
- BARALE, R.; SOZZI, G.; TONIOLO, P.; BORGHI, O.; REALI, D.; LOPRIENO, N. PORTA, G.D. Sister-chromatid exchanges in lymphocytes and mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Mutat. Res.*, **157**: 235-240, 1985.
- BARHAMAND, B.A. Difficulties encountered in implementing guidelines for handling antineoplastic in the physician's office. *Cancer Nurs.*, **9**(3): 138-143, 1986.
- BARNABEI, V.M.; SAKAMOTO, K.; SEELEY, J.K.; PURTILO, D.T. Chromosomal lymphoblastoid cell lines in the X-linked, lymphoproliferative syndrome. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **6**: 313-321, 1982.
- BASLER, A.; THEISS, I.; ROHRBORN, G. Cytogenetic effects of busulfan *in vivo* on bone marrow cells and oocytes of adult mice and liver cells of transplacentally exposed embryos. *Environ.*

Mutagen., 1: 233-238, 1979.

- BAUCHINGER, M.; DRESP, J.; SCHMID, E.; HAUF, R. Chromosome changes in lymphocytes after occupational exposure to pentachlorophenol (PCP). **Mutat. Res., 102: 83-88, 1982.**
- BECHER, R. & PRESCHER, G. Induction of sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations by busulfan in philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia and normal bone marrow. **Cancer Res., 48: 3435-3439, 1988.**
- BEEK, B. & OBE, G. Sister chromatid-exchanges in human leukocyte chromosome: spontaneous and induced frequencies in early-and late-proliferating cells **in vitro**. **Hum. Genet., 49: 51-61, 1979.**
- BEGLEITER, A. The contribution of alkylation to the activity of quinone antitumor agents. **Pharmacol., 64: 581-585, 1986.**
- BENDER, M.A.; PRESTON, R.J.; LEONARD, R.C.; PYATT, AB.E.; GOOCH, P.C.; SHELBY, M.D. Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample. **Mutat. Res., 204: 421-433, 1988.**
- BENDER, R.A. & YOUNG, R.C. Effects of cancer treatment on individual and generational genetics. **Semin. Oncol., 5(1): 47-56, 1978.**
- BENHAMOU, S.; CALLAIS, F.; SANCHO-GARNIER, H.; MIN, S.; COURTOIS, Y.A.; FESTY, B. Mutagenicity in urine from nurses handling cytostatic agents. **Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 22(12): 1489-1493, 1986.**
- BENHAMOU, S.; POT-DEPRUN, J.; SANCHO-GARNIER, H.; CHOUROUNLINKOV, I. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in lymphocytes of nurses handling cytostatic agents. **Int. J. Cancer, 41: 350-353, 1988.**
- BENITEZ, J.; CARBONELL, F.; FERRO, T.; PRIETO, F.; FAYOS, S.J. Cytogenetic studies in 18 patients with secondary blood disorders. **Cancer Genet. Cytogenet., 22: 309-317, 1986.**
- BERG, S. Precautions for handling antineoplastic agents in the home. **Am. J. Hosp. Pharm., 44: 1024, 1987.**
- BERGER, M.R.; HABS, M.; SCHAMAHL, D. Long-term toxicology effects of prednimustine in comparison with chlorambucil, prednisolone, and chlorambucil plus predmisolone in spragne-dawley rats. **Semin. Oncol., 13(1): 8-13, 1986.**
- BERGER, M.R.; PETRU, E.; SCHAMAHL, D. Carcinogenicity of 1-(4-amino-2-methylpyrimidine-5-yl)-methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea-hydrochloride and three related N-nitroso derivatives following

- repeated intra-venous administration to male wistar rats. **Oncology, 45:** 127-133, 1988.
- BESHARAH, A. Bureau of human prescription drugs, health protection branch tissues guidelines for safe handling of cytotoxic agents. **Canadian Nurse:** 46-47, 1982.
- BHISEY, A.N.; ADVAN, S.H.; KHARE, A.G. Cytogenetic anomalies in a child born to a mother receiving busulfan for chronic myeloid leukaemia. **Indian J. Cancer, 19:** 272-276, 1982.
- BIANCHI, N.; BIANCHI, S.; LARRAMENDY, M. Kinetics of human lymphocyte division and chromosomal radiosensitivity. **Mutat. Res., 63:** 317-324, 1979.
- BIANCHI, D.W.; DONNALDSON, C.H.; MOORHEAD, P.S. Absence of damage to human chromosomes by spray adhesives. **Mutat. Res., 26:** 545-551, 1974.
- BOHLKE, J.U.; SINGH, S.; GOEDD, H.W. Cytogenetic effects of acetaldehyde in lymphocytes of germans and japanese: SCE clastogenic activity, and cell cycle delay. **Hum. Genet., 63:** 285-289, 1983.
- BORNSTEIN, R.S.; HUNGERFORD, D.A.; HALLER, G.; ENGSTROM, P.F.; YARBRO, J.W. Cytogenetic effects of bleomycin therapy in man. **Cancer Res., 31:** 2004-2007, 1971.
- BOS, R.P.; LEENAARS, A.O.; THEUWS, J.L.G.; HENDERSON, P.Th. Mutagenicity of urine from nurses handling cytostatic drugs, influence of smoking. **Int. Arch. Occup. Environ. Health, 50:** 359-369, 1982.
- BRADLEY, M.O.; HSU, I.C.; HARRIS, C.C. Relationships between sister chromatid exchange and mutagenicity, toxicity and DNA damage. **Nature, 282:** 318-320, 1979.
- BRANDT-RAUF, P.W. & FALLON, L.F. Ampullary cancer in chemical workers. **Brit. J. Ind. Med., 44:** 569-570, 1987.
- BROGGER, A. & JOHANSEN, J. A model for the production of chromosome damage by mitomycin C. **Chromosoma, 38:** 95-104, 1972.
- BYRNE, J.; MULUIHILL, J.J.; MYERRS, M.H.; CONNELLY, R.R.; NAUGHTON, M.D.; KRAUSS, M.R.; STEINHORN, S.C.; HASSINGER, D.D.; AUSTIN, D.F.; BRAGG, K.; HOLMES, G.F.; HOLMES, F.F.; LATOURETTE, H.B.; WEYER, P.J.; MEIGS, J.W.; TETA, M.J.; COOK, J.W.; STRONG, L.C. Effects of treatment on fertility in long-term survivors of childhood or adolescent cancer. **New England J. Med., 317(21):**

1315-1321, 1987.

- CARRANO, A.; MINKLER, J.; STETKA, D.; MOORE, D. Variation in the baseline sister chromatid exchange frequency in human lymphocytes. **Environ. Mutagen.** 2: 325-337, 1980.
- CROSSEN, P.; DRETS, M.; ARRIGHI, F.; JOHNSTON, D. Analysis of the frequency and distribution of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. **Human Genet.**, 35: 345-352, 1977.
- CARTER, S.K.; BAKOVSKI, M.T.; HELLMANN, K. **Chemotherapy of Cancer**. New York. John Wiley e Sons, 1981. 379 p.
- CARTWRIGHT, S. Handling of injectable antineoplastic agents. **British Med. J.**, 281(6243): 807, 1980.
- CASELNOVA III, D.A.; DZIERBA, S.H.; ONEILL, M.S.; DILLON, K.R.; FARLEY, P.C. Implementing clinical pharmacy services in an outpatient oncology clinic. **Am. J. Hosp. Pharm.**, 42:1348-1352, 1985.
- CAUDELL, K.A.; VREDEVOE, D.L.; DIETRICH, M.F.; CAUDELL, T.P.; HOBAN, M.J.; BLOK, J.B. Quantification of urinary mutagens in nurses during potential antineoplastic agent exposure. A pilot study with concurrent environmental and dietary control. **Cancer Nurs.**, 11(1): 41-50, 1988.
- CESTARI, A.N.; BOTELHO VIEIRA FILHO, J.P.; YONENAGA, Y.; MAGNELLI, N.; IAMADA, J. A case of human reproductive abnormalities possibly induced by colchicine treatment. **Rev. Brasil. Biol.**, 25(3): 253-256, 1965.
- CHERRY, L.M. & HSU, T.C. Bleomycin-induced chromosome damage in lymphocytes of medullary thyroid carcinoma patients and their family members. **Anticancer Res.**, 3: 367-372, 1983.
- CHIBBER, R. & ORD, M.J. The mutagenic and carcinogenic properties of three second generation antitumour platinum compounds: a comparison with cisplatin. **Eur. J. Cancer. Clin. Oncol.**, 25(1): 27-33, 1989.
- COHEN, M.M.; SHAHAM, M.; DAGAN, J.; SHMUELI, E.; KOHN, G. Cytogenetic investigations in families with ataxia-telangiectasia. **Cytogenet. Cell. Genet.**, 15: 338-356, 1975.
- COHEN, M.M.; SIMPSON, S.J.; PAZOS, L. Specificity of bleomycin-induced cytotoxic effects on ataxia telangiectasia lymphoid cell lines. **Cancer Res.**, 41: 1817-1823, 1981.
- COHEN, I.A.; NEWLAND, S.J.; KIRKING, D.M. Injectable-antineoplastic-drug practices in Michigan hospitals. **Am. J. Hosp. Pharm.**, 44:



1096-1105, 1987.

COLLINGWOOD, K.W.; PASTERNAK, B.S.; SHORE, R.E. An industry-wide study of respiratory cancer in chemical workers exposed to chloromethyl ethers. *J. N. C. I.*, **78**: 1127-1136, 1987.

COLLS, B.M. Safety of handling cytotoxic agents: a cause for concern by pharmaceutical companies? *British Med. J.*, **291**: 1318-1319, 1985.

COMINGS, D.E. Mechanisms of chromosome banding. VIII. Hoeschst 33258-DNA interaction. *Chromosoma*, **52**: 229-243, 1975.

CONNOR, T.H.; LAIDLAW, J.L.; THEISS, J.C. Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to carmustine. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **41**: 676-679, 1984.

CORBERAND, J.; PRIS, J.; ROBERT, A.; MONNIER, J.; REGNIER, C. Accidents neurologiques graves secondaires a l'injection intrarachidienne d'agents cytostatiques. *Arch. Franç. Péd.*, **30**: 177-188, 1983.

COURTOIS, Y.A.; BEAUBESTRE, C.; BENHAMOU, S.; MIN, S.; CALLAIS, F.; SANCHO-GARNIER, H.; FESTY, B. Détermination de la génotoxicité urinaire: application au dépistage de l'exposition tabagique et/ou professionnelle. *Ann. Pharm. Franç.*, **45**(4): 289-300, 1987.

COX, K.; STUART-HARRIS, R.; ABDINI, G.; GRYGIEL, J.; RAGHAVAN, D. The management of cytotoxic-drug extravasation: guide-lines drawn up by a working party for the Clinical Oncology Society of Australia. *Med. J. Australia*, **148**: 185-189, 1988.

CROOKE, S. Biochemical effects of drugs on cell nucleus. In: Busch, J.; Crook, S.; Daskal, Y. eds. *Effects of drugs on the cell nucleus*. NY. Academic Press, 1979. p. 127-143.

CRUDI, C.B.A. A compounding dilemma: I've kept the drug sterile but have I contaminated myself? *Natl. IV Ther. J.*, **3**: 77-80, 1980.

D'ARCY, P.F. Drug interactions e reactions update. Reactions and interactions in handling anticancer drugs. *Drug Intel. Clin. Pharm.*, **17**: 532-538, 1983.

DAVIDSON, R.; KAUFMAN, E.; DOUGHERTY, C.; QUELLETTE, A.; DI FOLCO, C.; LATT, S. Induction of sister chromatid exchanges in largely independent of the BrdU content of DNA. *Nature*, **284**, 74-76, 1980.

DAVIS, M.R. Guidelines for safe handling of cytotoxic drugs in pharmacy departments and hospital wards. *Hosp. Pharm.*, **16**: 17-20, 1981.

- DE MARINI, D.M.; BROCK, K.H.; DOERR, C.L.; MOORE, M.M. Mutagenicity of actinomycin D in mammalian cells due to clastogenic effects. *Mutat. Res.*, **192**: 151-155, 1987.
- DEVI, K.R. & REDDY, P.P. Evaluation of tiotepa for genetic damage in mice. *Indian J. Exp. Biol.*, **18**: 866-867, 1980.
- DOBOS, M.; SCHULER, D.; FEKETE, G. Cyclophosphamide-induced chromosomal aberrations in nontumorous patients. *Humangenetik*, **22**:221-227, 1974.
- DOERJER, G.; BEDELL, M.A.; DESCH, F. DNA adducts and their biological relevance. In: Obe, G. ed. *Mutation in man*. Berlin, Springer-Verlag, 1984. p. 20-34.
- DOLL, D.C.; RINGENBERG, Q.S.; YARBRO, J.W. Vascular toxicity associated with antineoplastic agents. *J. Clin. Oncol.*, **4**(9): 1405-1417, 1986.
- DONNER, A.L. Possible risk of working with antineoplastic drugs in horizontal laminar flow hoods. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **35**: 900, 1978.
- DRAGANI, R.A.; SOZZI, G.; DELLA PORTA, G. Effect of enzymatic induction and inhibition on cyclophosphamide-induced sister chromatid exchange *in vivo*. *Carcinogenesis*, **4**(1): 83-86, 1983.
- DRESP, J.; SCHMID, E.; BAUCHINGER, M. The cytogenetic effect of bleomycin on human peripheral lymphocytes *in vitro* and *in vivo*. *Mutat. Res.*, **56**: 341-353, 1978.
- DUTRILLAUX, B.; COUTURIER, J.; VIEGAS-PEQUIGNOT, E.; SCHAISON, G. Localization of chromatid breaks in Fanconi's anemia, using three consecutive strains. *Hum. Genet.*, **37**: 65-71, 1977.
- EDDLEMON, J.K.; HAYMAN, J.N.; BRELAND, B.D. Establishment and operation of an oncology satellite pharmacy. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **41**: 2045-2048, 1984.
- EVANS, R.M. Guidelines for handling parenteral antineoplastic. *Jana*, **253**(11): 1590-1592, 1985.
- FALCK, K.; GROHN, P.; SORSA, M.; VAINIO, H.; HEINONER, E.; HOLSTI, L. Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet*, **1**(8128): 1250-1251, 1979.
- FISCHER, R.G. & MORGAN, S.A. Handling antineoplastic drugs. *Pediatric Nurs.*, **12**(1): 59, 1986.
- FLEISHER, J.M. Medical students' exposure to formaldehyde in gross anatomy laboratories. *NY Stat. J. Med.*, **87**: 385-388, 1987.
- FLEISS, J.L. In. *Statistical methods for rates and proportions*. John Wiley e Sons, 1981, p. 138-158.



- FORNI, A. Chromosomal aberrations in monitoring exposure to mutagens-carcinogens. *IARC Sci. Publ.*, **59**: 325-337, 1984.
- FORNI, A.; SCIAME, A.; BERTAZZI, P.A.; ALESSIO, L. Chromosome and biochemical studies in women occupationally exposed to lead. *Arch. Environ. Health.*, **35**(3): 139-146, 1980.
- FORST, L.S. Antineoplastic drugs as an occupational hazard in hospitals. *Ann. Intern. Med.*: 473, 1985.
- FORTUNY, I.E. & THEOLOGIDES, A. Late toxic effects of cytotoxic drugs. *Minnesota Med.*, **57**: 19-21, 1974.
- FRIEDMAN, T.S.; TRIBOLETTI, M.; SANDUSKY, R.M.; KATZ, S. Antineoplastic admixture service in a tertiary-care hospital. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **41**: 2037-2044, 1984.
- FRIEDMAN, J.; SHABTAI, F.; LEVY, L.S.; DJALDETTI, M. Chromium chloride induces chromosomal aberrations in human lymphocytes via indirect action. *Mutat. Res.*, **191**: 207-210, 1987.
- FROES, N.D.T.C. Investigação de efeitos induzidos por *Euphorbia tirucalli* L. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 1985.
- FUKUSHIMA, T. Chromosome aberrations induced with bussulfan on human lymphocytes. *Acta Haem. Jap.*, **33**: 312-320, 1970.
- FUNES-CRAVIOTO, F.; KOLMODIN-HEDMAN, N.; NORDENSKJOLD, M.; ZAPATA-GAYON, C.; LAMBERT, B.; NORBERG, E.; OLIN, R.; SWENSSON, A. Chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in workers in chemical laboratories and a rototyping factory and in children of women laboratory workers. *Lancet*, **1**: 322-325, 1977.
- FUNES-CRAVIOTO, F.; YAKOVLENKO, K.N.; KULESHOV, N.P.; ZHURKOV, V.S. Localization of chemically induced breaks in chromosomes of human leucocytes. *Mutat. Res.*, **23**: 87-105, 1974.
- GALLOWAY, S.M. & EVANS, H.J. Sister chromatid exchange in human chromatid exchange in human chromosomes from normal individuals and patients with ataxia telangiectasia. *Cytogenet. Cell Genet.*, **15**: 17-29, 1975.
- GARCIA, J.; RUISANCHEZ, N.; LONGCHONG, M.; VALDES, M.; PUIG, M.; MENENDEZ, J.; ALBERT, J.; RAMOS, S. Chromosomal anomalies in children treated for cancer. *Neoplasma*, **33**(5): 657-662, 1986.
- GEARY, C.G. Lymphoma and leukaemia due to drugs. *British J. Hosp. Med.*, **24**: 538-547, 1980.

- GEBHART, E. Sister chromatid exchange (SCE) and structural chromosome aberrations in mutagenicity testing. *Hum. Genet.*, **58**: 235-254, 1981.
- GEBHART, E. Chromosomal aberrations in lymphocytes of patients under chemotherapy. In: Obe, G. ed. *Mutations in Man*. Berlin Springer-Verlag, 1984. p. 198-223.
- GEBHART, E.; LOSING, J.; WOPFNER, F. Chromosome studies on lymphocytes of patients under cytostatic therapy. *Hum. Genet.*, **55**: 53-63, 1980.
- GENEROSO, W.M.; PRESTON, R.J.; BREWEN, J.G. 6-Mercaptopurine, an inducer of cytogenetic and dominant lethal effects in premeiotic and early meiotic germ cells of male mice. *Mutat. Res.*, **28**: 437-447, 1975.
- GENUARDI, M.; ZOLLINO, M.; SERRA, A.; LEONE, G.; MANCINI, R.; MANGO, G.; NERI, G. Long-term cytogenetic effects of antineoplastic treatment in relation to secondary leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **33**: 201-211, 1988.
- GHOSH, P. & NAND, R. Reduced frequency of sister chromatid exchanges in human lymphocytes cultured with autologous serum. *Hum. Genet.*, **51**: 167-170, 1979.
- GIBSON, J.F.; GOMPERTZ, D.; HEDWORTH-WHITTY, R.B. Mutagenicity of urine from nurses handling cytotoxic drugs. *Lancet*, (6923): 100-101, 1984.
- GILLIAN-CLARE, M.; YARDLEY-JONES, A.; MACLEAN, A.C.; DEAN, B.J. Chromosome analysis from peripheral blood lymphocytes of workers after an acute exposure to benzene. *British J. Ind. Med.*, **41**: 249-253, 1984.
- GILLIAN-CLARE, M.; JONES, W.G.; TAYLOR, J.H. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes exposed to single cytotoxic drugs *in vivo* or *in vitro*. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, **18**(10): 979-989, 1982.
- GILLIAN-CLARE, M.; TAYLOR, J.H.; BLAIN, E.; JONES, W.G. The quantitation of sister chromatid exchanges in lymphocytes of cancer patients at intervals after cytotoxic chemotherapy. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, **19**(11): 1509-1515, 1983.
- GILLILLAND, J. & WEINSTEIN, L. The effects of cancer chemotherapeutic agents on the developing fetus. *Obstet. Gynec. Surv.*, **38**(1): 6-13, 1983.
- GIULOTTO, E.; MOTTURA, A.; GIORGI, R.; DE CARLI, L.; NUZZO, F.

- Frequencies of sister chromatid exchanges in relation to cell kinetics in lymphocyte cultures. *Mutat. Res.*, **70**: 343-350, 1980.
- GOODMAN, S.R.N. Handling cytotoxics. *Nurs. Times*: 58, 1984.
- GOREN, M. P.; WRIGHT, R.K.; HOROWITZ, M.E.; MEYER, W.H. Enhancement of metotrexate nephrotoxicity after cisplatin therapy. *Cancer*, **59**: 2617-2621, 1986.
- GOUSSE, G.C.; NIGHTINGALE, C.H.; DIONNE, G.P. Biological safety cabinets for chemotherapy preparations. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **38**: 967, 1981.
- GRANATA, S.M. & EVANS, H.J. Sister chromatid exchange in bone marrow cells from a patient with Fanconi's anemia. *Haematol.*, **66**: 18-24, 1981.
- GREGOIRE, R.E.; SEGAL, R.; HALE, K.M. Handling antineoplastic-drug admixtures at cancer centers: practices and pharmacist attitudes. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **44**: 1090-1095, 1987.
- GUPTA, R.S.; BROMKE, A.; BRYANT, D.W.; GUPTA, R.; SINGH, B.; McCALLA, D. Etoposide (VP16) and teniposide (VM26): novel anticancer drugs, strongly mutagenic in mammalian but not prokaryotic test systems. *Mutagenesis*, **2**(3): 179-186, 1987.
- HARRIS, J. & DODDS, L.J. Handling waste from patients receiving cytotoxic drugs. *Pharm. J.*: 289-291, 1985.
- HEALTH Jr., C.W.; DUMONT, C.R.; GAMBLE, J.; WAXWEILER, R.J. Chromosomal damage in men occupationally exposed to vinyl chloride monomer and other chemicals. *Environ Res*, **14**: 68-72, 1977.
- HEDNER, K.; HOGSTED, B.; KOLNING, A.M.; MARK-VENDEL, E.; STROMBECK, B.; MITELMAN, F. Sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in relation to age and sex. *Hum. Genet.*, **62**: 305-309, 1982.
- HEIM, S. Spontaneous and mitomycin C induced structural chromosome aberrations in lymphocyte cultures from patients with adenomatosis of the colon and rectum. *Hereditas*, **103**: 235-238, 1985.
- HEIM, S. & MITELMAN, F. Acute nonlymphocytic leukemia. In: *Cancer Cytogenetics*. New York, Alan R. Liss, 1987. p. 65-110.
- HELGERSON, S.D. & WILLIAMS, D.H. Handling of antineoplastic drugs in Washington hospitals. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **41**: 448-449, 1984.
- HEMMINKI, K.; KYIRONEN, P.; MARJA-LIISA, L. Spontaneous abortions and malformations in the offspring of nurses exposed to anaesthetic gases, cytostatic drugs, and other potential hazards

- in hospitals, based on registered information of outcome. **J. Epidem. Comm. Health**, 39: 141-147, 1985.
- HIRST, M.; TSE, S.; MILLS, D.G. Occupational exposure to cyclofosfamide. **Lancet**: 186-188, 1984.
- HIRST, M.; TSE, S.; MILLS, D.G.; LEVINE, L.; WHITE, D.F. Caution on handling antineoplastic drugs. **New England J. Med.**, 309: 188-189, 1983.
- HITCHINGS, C.R.; JENNINGS, K.; KNASS, A.; SPEECHLEY, V.; WHITE, A. Guidelines for the handling of cytotoxic drugs. **Pharm. J.**: 230-231, 1983.
- HITTELMAN, W.N. & RAO, P.N. Bleomycin-induced damage in prematurely condensed chromosomes and its relationship to cell cycle progression in CHO cell. **Cancer. Res.**, 34: 3433-3439, 1974.
- HOEHN, H. & MARTIN, G.M. Heritable alteration of human constitutive heterochromatin induced by mitomycin C. **Exptl. Cell. Res.**: 75, 1972.
- HOEHN, H. & MARTIN, G.M. Clonal variants of constitutive heterochromatin of human fibroblasts after recovery from mitomycin treatment. **Chromosoma**, 43: 203-210, 1973.
- HOFFMAN, D.M. The handling of antineoplastic drugs in a major cancer center. **Hosp. Pharm.**, 15: 302-304, 1980.
- HOGSTEDT, B.; GULLBERG, B.; MARK-VENDEL, E.; MITELMAN, F.; SKERFVING, S. Micronuclei and chromosome aberrations in bone marrow cells and lymphocytes of human mainly to petroleum vapors. **Hereditas**, 94: 179-187, 1981.
- HOLDEN, H.W.; RAY, V.A.; WARENBURG, M.G.; ZELENSKI, J.D. Mutagenicity studies with 6-mercaptopurine: I. Cytogenetic activity in vivo. **Mutat. Res.**, 20: 257-263, 1973.
- HOLLAND, J. & FREI, E. Principles of chemotherapy. In: **Cancer Medicine**. Philadelphia, Lea e Febiger, 1982, p. 620-774.
- HOWELL, S.K.; HAIDLE, C.W. & WANG, Y.M. Daunorubicin-induced DNA lesions in isolated rat hepatocytes and mammary epithelial cells. **Bioc. Biop. A.**, 868: 254-261, 1986.
- HOY, R.H. & STUMP, L.M. Effect of an air-venting filter device on aerosol production from vials. **Am. J. Hosp. Pharm.**, 41: 324-326, 1984.
- HUSGAFVEL-PURSIANEN, K.; MAKI-PAKKANEN, J.; NORPPA, H.; SORSA, M. Smoking and sister chromatid exchange. **Hereditas**, 92: 247-250, 1980.



- HUSUM, B. Mutagenicity of inhalation anaesthetics studied by the sister chromatid exchange test in lymphocytes of patients and operating room personnel. **Danish Med. Bull.**, **34**(3): 159-170, 1987.
- HUSUM, B.; WULF, H.C.; NIEBUHR, E. Increased sister chromatid exchange frequency in lymphocytes in healthy cigarette smokers. **Hereditas**, **96**: 85-88, 1982.
- IKUSHIMA, T. & WOLFF, S. Sister chromatid exchanges induced by flashes to 5-bromodeoxyuridine and 5-iododeoxyuridine substituted chinese hamster chromosomes. **Exp. Cell Res.**, **87**: 15-19, 1984.
- ISCN (1978): An International system for human cytogenetic nomenclature (1978). **Cytogenet. Cell Genet.**, **21**: 309-404, 1978.
- ISHII, Y. Nature of the mitomycin-C induced lesion causing sister-chromatid exchange. **Mutat. Res.**, **91**: 51-55, 1981.
- ISHII, Y. & BENDER, M.A. Factors influencing the frequency of mitomycin C-induced sister-chromatid exchanges in 5-bromodeoxyuridine-substituted human lymphocytes in culture. **Mutat. Res.**, **51**: 411-418, 1978.
- JAGUN, O.; RYAN, M.; WALDRON, H. A. Urinary tioether excretion in nurses handling citotoxic drugs. **Lancet**: 443-444, 1982.
- JAMRA, M. & LORENZI, T.F. Tratamento das leucemias e linfomas. Bases farmacodinâmicas. In: **Leucócitos, Leucemias e Linfomas**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1983. p. 310-330.
- JENSEN, M.K. & PHILIP, P. The cytogenetic effect of rubinomycin *in vivo* in rats. **Mutat. Res.**, **12**: 91-96, 1971.
- JOHNSON, E.G. & JANOSIK, J.E. Manufacturers' recommendations for handling spilled antineoplastic agents. **Am. J. Hosp. Pharm.**, **46**: 318-319, 1989.
- JOHNSON, K.A. & WALKER, N.F. Combined services of a community hospital and clinic to provide antineoplastic drugs for outpatients. **Am. J. Hosp. Pharm.**, **41**: 94-98, 1984.
- JONES, R.B.; FRANK, R.; MASS, T. Safe handling of chemotherapeutic agents: a report from the mount sinai medical center. **CA-A Cancer J. Clin.**, **33**(5): 258-263, 1983.
- JORDAN, D.K.; PATIL, S.R.; JOCHIMSEN, P.R.; LACHENBRUCH, P.A.; CORDER, M.P. Sister chromatid exchange analysis in nurses handling antinoplastic drugs. **Cancer Invest.**, **4**(2): 101-107, 1986.
- JOSELSON, R. & WARNOCK, M. Pulmonary veno-occlusive disease after chemotherapy. **Hum. Pathol.**, **13**: 88-91, 1983.

- JUMA, F.D.; ROGERS, H.J.; TROUNCE, J.R. Pharmacokinetics of intravenous cyclophosphamide in man, estimated by gas liquid chromatography. **Cancer Chemother. Pharm.**, **1**: 229-231, 1978.
- KALTER, H. Antineoplastic drugs and spontaneous abortion in nurses. **New Engl. J. Med.**, **314**(16): 1048-1049, 1986.
- KAMEN, B.A. Metotrexate, folate and the brain. **Neuro. Toxicol.**, **7**(2): 209-216, 1986.
- KAO-SHAN, C.S.; FINE, R.L.; WHANG-PENG, J.; LEE, E.C.; CHABNER, B.A. Increased fragile sites and sister chromatid exchanges in bone marrow and peripheral blood of young cigarette smokers. **Cancer Res.**, **47**: 6278-6282, 1987.
- KAO-SHAN, C.S.; MUCICICH, K.; ZWELLING, L.A.; WHANG-PENG, J. Cytogenetic effects of amsacrine on human lymphocyte *in vivo* and *in vitro*. **Cancer Treat. Rep.**, **69**(7-8): 989-997, 1984.
- KATO, H. & SANDBERG, A. The effect of sera on sister chromatid exchanges *in vitro*. **Exp-Cell Res.**, **109**: 445-448, 1977.
- KATO, H. & SHIMADA, H. Sister chromatid exchanges induced by mitomycin C: a new method of detecting DNA damage at chromosomal level. **Mutat. Res.**, **28**: 459-464, 1975.
- KECK, M. & EMERIT, I. The influence of culture medium composition on the incidence of chromosome breakage. **Hum. Genet.**, **50**: 277-283, 1979.
- KLEINBERG, M.L. & QUINN, M.J. Airborne drug levels in a laminar-flow hood. **Am. J. Hosp. Pharm.**, **38**: 1301-1303, 1981.
- KLENER, P. Risques de manipulation avec les chimiothérapeutiques anticancéreux. **Cas. Lek. Ces.**, **124**(29): 897-901, 1985.
- KLIGERMAN, A.; WILMER, J.; EREXSON, G. Characterization of a rat lymphocyte culture system for assessing sister chromatid exchange. II. Effect of 5-bromodeoxyuridine concentration, number of white blood cells in the inoculum, and volume. **Environ. Mutagen.**, **4**: 585-594, 1982.
- KNOWLES, R.S. & VIRDEN, J.E. Handling of injectable antineoplastic agents. **British Med. J.**, **281**(6240): 589-591, 1980.
- KOHN, K.W.; WARING, M.J.; GLAUBIGER, D.; FRIEDMAN, C.A. Intercalative binding of ellipticine to DNA. **Cancer Research**, **35**: 71-76, 1975.
- KORENBERG, J.R. & FREEDLENDER, E.F. Giemsa Technique for the detection of sister chromatid exchanges. **Chromosoma**, **48**: 355-360, 1974.

- KOROLKOVAS, A. & BURCKHAETER, J.A. Agentes antineoplásicos. In: Química Farmacêutica, Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1982. p. 618-648.
- KOSKUL, H. & AULA, P. Nonrandom distribution of chromosome breaks in Fanconi's anemia. *Cytogenet. Cell Genet.*, **12**: 423-434, 1973.
- KRAM, D.; BYNUM, G.D.; DEAN, R.; SCHNEIDER, E.L.; FARLAND, W.H.; WILLIAMS, J.R. Effects of acute and chronic administration of mitomycin C on the induction of sister chromatid exchanges *in vivo*. *Environ. Mutagen.*, **3**: 489-495, 1981.
- KRIEK, E.; ENGELSE, L.D.; SHERER, E.; WESTRA, J.G. Formation of DNA modifications by chemical carcinogens: identification, localization. *Bioc. Biop. A.*, **738**: 181-201, 1984.
- KRISHNA, G.; NATH, J.; SONG, T. A comparison of baseline of cyclophosphamide-induced sister chromatid exchanges in bone marrow and spleen cells of mouse and chinese hamster. *Environ. Mutagen.*, **8**: 449-459, 1986.
- KRISHNA, G.; NATH, J.; PETERSEN, M.; ONG, T. Cyclophosphamide-induced cytogenetic effects in mouse bone marrow and spleen cells in *in vivo* and *in vivo/in vitro* assays. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, **7**: 183-195, 1987.
- KRISHNA, G.; NATH, J.; PETERSEN, M.; ONG, T. *In vivo* and *in vivo/in vitro* kinetics of cyclofosfamide-induced sister-chromatid exchanges in mouse bone marrow and spleen cells. *Mutat. Res.*, **204**: 297-305, 1988.
- KUSYK, C.J. & HSU, T.C. Adriamycin-induced chromosome damage: elevated frequencies of isochromatid in G2 and S phase. *Experientia*, **32**: 1513-1514, 1976.
- LADIK, C.F.; STOEHR, G.P.; MAURER, M.A. Precautinoary measures in the preparation of antineoplastic. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **37**: 1184-1186, 1980.
- LAIDLAW, J.L. CONNOR, T.H.; THEISS, J.C.; ANDERSON, R.W.; MATNEY, T.S. Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to 20 antineoplastic drugs. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **41**: 2618-2626, 1984.
- LA IGLESIA, F.A.; FITZGERALD, J.E.; MCGUIRE, E.J.; KIM, S.N.; HEIFETZ, C.L.; STONER, G.D. Bacterial and mammalian cell mutagenesis, sister-chromatid exchanges, and mouse lung adenoma bioassay with the antineoplastic acridine derivate amsacrine. *J. Toxicol. Environ. Health*, **14**: 667-681, 1984.

- LAMBERT, B. & HOLMBERG, K. Chromosome damage and second malignancy in patients treated with melphalan. *IARC Sci. Publ.*, **78**: 147-160, 1986.
- LAMBERT, B.; HOLMBERG, K.; EINHORN, N. Persistence of chromosome rearrangements in peripheral lymphocytes from patients treated with melphalan for ovarian carcinoma. *Hum. Genet.*, **67**: 94-98, 1984.
- LAMBERT, B. & LINDBLAD, A. Sister chromatid exchange and chromosome aberrations in lymphocytes of laboratory personnel. *J. Toxicol. Environ. Health*, **6**: 1237-1243, 1980.
- LAMBERT, B.; LINDBLAD, A.; NORDENSKJOLD, M.; WERELIUS, B. Increased frequency of sister chromatid exchanges in cigarette smokers. *Hereditas*, **88**: 147-149, 1978b.
- LAMBERT, B.; RINGBORG, U.; LINDBLAD, A. Prolonged increase of sister-chromatid exchanges in lymphocytes of melanoma patients after CCNU treatment. *Mutat. Res.*, **59**: 295-300, 1979.
- LAMBERT, B.; RINGBORG, U.; HARPER, E.; LINDBLAD, A. Sister-chromatid exchanges in lymphocyte cultures of patients receiving chemotherapy for malignant disorders. *Cancer Treat. Reports*, **62**(10): 1413-1419, 1978a.
- LATT, S.A. Localization of sister chromatid exchanges in human chromosomes. *Science*, **185**: 74-76, 1974a.
- LATT, S.A. Sister chromatid exchange, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence and induction by mitomycin C. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **71**: 3162-3166, 1974b.
- LATT, S.A. Sister chromatid exchange formation. *Ann. Rev. Genet.*, **15**: 11-55, 1981.
- LATT, S.A.; SCHRECK, R.R.; LOVEDAY, K.S.; SHULER, C.F. In vitro and in vivo analysis of sister chromatid exchange. *Pharm. Reviews*, **30**: 501-535, 1979.
- LATT, S.A. & WOHLLEB, J.C. Optical studies of the interaction of 33258 Hoechst with DNA, chromatin, and metaphase chromosome. *Chromosoma*, **52**: 297-316, 1975.
- LEROY, M.L.; ROBERTS, M.J.; THEISEN, J.A. Procedures for handling antineoplastic injections in Comprehensive Cancer Centers. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **40**: 601-603, 1983.
- LEVANTINE, A. & ALMEYDA, J. Cutaneous reactions to cytostatic agents. *British J. Dermatol.*, **90**: 239-242, 1974.
- LINDBLAD, A. & LAMBERT, B. Relation between sister chromatid

- exchange, cell proliferation and proportion of B and T cells in human lymphocyte cultures. *Hum. Genet.*, **57**: 31-34, 1981.
- LITTLEFIELD, L.G. & JOINER, E.E. Analysis of chromosome aberrations in lymphocytes of long-term heavy smokers. *Mutat. Res.*, **170**: 145-150, 1986.
- MACLEOD, R.I.; WELBURY, R.R.; SOAMES, J.V. Effects of cytotoxic chemotherapy on dental development. *J. Royal S. Med.*, **80**: 207-209, 1987.
- MACNALLY, A. & RAY, M. Sister chromatid exchanges distribution in various human tissues exposed to MMC and BrdU. *Ann. Génét.*, **26**: 225-228, 1983.
- MAMURIS, Z.; PRIEUR, M.; DUTRILLAUX, B.; AURIAS, A. The chemotherapeutic drug melphalan induces breakage of chromosomes regions rearranged in secondary leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **37**: 65-77, 1989.
- MANANDHAR, M.; CHENG, M.; LATROPOULOS, M.J.; NOBLE, J.F. Genetic toxicology profile of the new antineoplastic drug mitoxantrone in the mammalian test system. *Drug Res.*, **36**(9): 1375-1379, 1986.
- MARK-VENDEL, E.; HOGSTEDT, B.; SKERFVING, S.; MITELMAN, F. Localization of chromosome aberrations in bone marrow cells of individuals exposed mainly to petroleum vapors. *Hereditas*, **95**: 235-237, 1981.
- MARTEL-PELLETIER, J. & PELLETIER, J.P. Degradative changes in human articular cartilage induced by chemotherapeutic agents. *J. Rheumatol.*, **13**(1): 164-174, 1986.
- MASSIMO, L.; DAGNA-BRICARELLI, F.; FOSSATI-GUGLIELMONI, A. Effects of adriamycin on human lymphocytes stimulated with PHA *in vitro*. *Rev. Europ. Études Clin. Biol.*, **XV**: 793-799, 1970.
- MATTEI, M.G.; AYME, S.; MATTEI, J.F.; AURRAN, Y.; GIRAUD, F. Distribution of spontaneous chromosomes breaks in human. *Cytogenetic. Cell Genet.*, **23**: 95-102, 1979.
- MCDIARMID, M. & EGAN, T. Acute occupational exposure to antineoplastic agents. *J. Occup. Med.*, **30**(12): 984-987, 1988.
- MEYNE, J.; LOCKHART, L.H.; ARRIGHI, F.E. Nonrandom distribution of chromosomal aberrations induced by three chemicals. *Mutat. Res.*, **63**: 201-209, 1979.
- MILLER, K. Sister chromatid exchange in highly purified human B and T lymphocytes. *Hum. Genet.*, **72**: 160-163, 1986.

- MILTENBURGER, H.G.; METZGER, P.; KRAUSE, Ch. Busulphan-induced chromosomal aberrations in intestinal cells of chinese hamster. *Mutat. Res.*, **79**: 257-262, 1980..
- MITELMAN, F. Chromosomal changes in cancer in relation to exposure to carcinogenic agents. *IARC Sci. Publ.*, **59**: 351-360, 1984.
- MOHN, G.R. & ELLENBERGER, J. Genetic effects of cyclophosphamide isofosfamide and trofosfamide. *Mutat. Res.*, **32**: 331-360, 1976.
- MONTICONE, R.E. & SCHNEIDER, E.L. Induction of SCEs in human cells by fluorescent light. *Mutat. Res.*, **59**: 215-221, 1979.
- MONDELLO, S.; GIORGI, R.; & NUZZO, F. Chromosomal effects of methotrexate on cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.*, **139**: 67-70, 1984.
- MOODY, D.G. Veterans administration medical center policies and procedures for handling injectable antineoplastic drugs. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **41**: 916-919, 1984.
- MOORE, M.M.; BROCK, K.H.; DOERR, C.L.; DEMARINI, D.M. Mutagenicity and clastogenicity of adriamycin in L5178Y/TK +/- -3.7.2C mouse lymphoma cells. *Mutat. Res.*, **191**: 183-188, 1987.
- MOORHEAD, P.S.; NOWEL, P.C.; MELLMAN, W.J.; BATIPPS, D.M.; HUNGERFORD, D.A. Chromosome preparation of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, **20**: 613-616, 1960.
- MOQUET, J.E.; LLOYD, D.C.; PROSSER, J.S.; EDWARDS, A.A. Sister-chromatid exchanges induced by mitomycin C after exposure of human lymphocytes in G0 to a low dose of X-radiation. *Mutat. Res.*, **176**: 143-146, 1987.
- MORAD, M.; HONASSON, J.; LINDSTEN, J. Distribution of mitomycin C induced breaks on human chromosomes. *Hereditas*, **74**: 273-282, 1973.
- MORGAN, W.F. & CROSSEN, P.E. The frequency and distribution of sister chromatid exchanges in human chromosomes. *Hum. Genet.*, **39**: 271-278, 1977a.
- MORGAN, W.F. & CROSSEN, P.E. The incidence of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.*, **42**: 305-312, 1977b.
- MORGAN, W. & CROSSEN, P. Factors influencing sister-chromatid exchange rate in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.*, **81**: 395-402, 1981.
- MULDER, P.O.M.; SLEIJFER, D.T.; de VRIES, E.G.E.; UGES, D.R.A.; MULDER, N.H. Renal dysfunction following high-dose carboplatin treatment. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **114**: 212-214, 1988.



- MULLER, K.M.; MENNE, R.; HUTHER, W.; GROBE, H. Fatal pneumopathy after cytostatic treatment for leukemia in children. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **94**: 287-294, 1979.
- MURCIA, C.R. & NOMBELA, J.J.A. Cytological aberrations produced by methotrexate in mouse ascites tumours. *Mutat. Res.*, **14**: 405-412, 1972.
- MURTY, V.V.V.S.; MITRA, A.B.; SHARMA, A.; DAS, B.C.; LUTHRA, U.K. Mitomycin C induced chromosomal agerrations and sister chromatid exchanges (SCEs) in lymphocytes of patients with precancerous and cancerous lesions of the uterine cervix. *Neoplasma*, **34**(1): 101-105, 1987.
- MUSILOVA, J.; MICHALOVA, K.; URBAN, J. Sister-chromatid exchanges and chromosomal breakage in patients treated with cytostatic. *Mutat. Res.*, **67**: 289-294, 1979.
- NAGAYA, T. & TORIUMI, H. Effects of smoking on spontaneous and induced sister chromatid exchanges in lymphocytes. *Toxicol. Letters*, **25**: 293-296, 1985.
- NAKANISHI, Y. & SCHNEIDER, E.L. *In vivo* sister-chromatid exchange: a sensitive measure of DNA damage. *Mutat. Res.*, **60**: 329-337, 1979.
- NAKAYAMA, T.; KANEKO, M.; KODAMA, M.; NAGAT, C. Cigarette smoke induces DNA single-strand breaks in human cells. *Nature*, **314**(4), 1985.
- NATARAJAN, A.T.; BRINJN, E.A.; LEEFLANG, P.; SLEE, P.H. Th. J.; MOHN, G.R.; DRIESSEN, O. Induction of chromosomal alterations as an assay for cytostatic drug activity in plasma. *Mutat. Res.*, **121**: 39-45, 1983.
- NEAL, A. de W.; WADDEN, R.A.; CHIOU, W.L. Exposure of hospital workers to airborne antineoplastic agents. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **40**: 597-601, 1983.
- NEMOTO, K.; HONMA, K.; OHNISHI, Y.; ABE, M.; ABE, A. Three cases of secondary leukemia-clinicopathologic findings. *Acta Pathol. Jpn.*, **37**(5): 817-830, 1987.
- NETER, J. & WASSERMAN, W. *Applied linear statistical models*. Homewood, Richard D. Irwin, 1979. 842 p.
- NEVSTAD, N.P. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations induced in human lymphocytes by cytostatic drug adriamycin *in vivo* and *in vitro*. *Mutat. Res.*, **57**: 253-258, 1978.
- NEWMAN, C.E. & ELLIS, D.J. Pancreatitis during combination

- chemotherapy. **Clin. Oncol.**, **5**: 83-84, 1979.
- NEWMAN, S.M.; SUMMITT, R.L.; NUNEZ, L.J. Incidence of nickel-induced sister-chromatid exchange. **Mutat. Res.**, **101**: 67-75, 1982.
- NEWSOME, Y.L. & SINGH, D.N. Cytologic effects of adriamycin on human peripheral lymphocytes. **Acta Cytol.**, **21**(1): 137-140, 1977.
- NGUYEN, T.V.; THEISS, J.C.; MATNEY, T.S. Exposure of pharmacy personnel to mutagenic antineoplastic drugs. **Cancer Res.**, **42**: 4792-4796, 1982.
- NICHOLS, W.W. Significance of various type chromosome aberrations for man. **Environ. Health Persp.**: 179-183, 1973.
- NIKULA, E.; KIVINIITY, K.; LEISTI, J.; TASKINEN, P.J. Chromosome aberrations in lymphocytes of nurses handling cytostatic agents. **Scand. J. Work Environ. Health**, **10**: 71-74, 1984.
- NORDENSON, I.; BECKAMAN, L.; STJERNBERG, N. Chromosomal aberrations and cancer risk. **Hum. Hered.**, **34**: 76-81, 1984.
- NORPPA, H.; SORSA, M.; VAINIO, H.; GROHN, P.; HEINONEN, F.; HOLSTI, L.; NORDEMAN, E. Increased sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. **Scand. J. Work Environ. Health**, **6**: 299-301, 1980.
- OAKLEY, P.A. & REEVES, E. The value of a centralised reconstitution service. **Pharm. J.**, **232**: 391-392, 1984.
- OBE, G.; VOGT, H.J.; MADLE, S.; FAHNING, A.; HELLER, W.D. Double-blind study on the effect of cigarette smoking on the chromosomes of human peripheral blood lymphocytes *in vivo*. **Mutat. Res.**, **92**: 309-319, 1982.
- OHTSURU, M.; ISHII, Y.; TAKAI, S.; HIGASHI, H.; KOSAKI, G. Sister chromatid exchanges in lymphocytes of cancer patients receiving mitomycin C treatment. **Cancer Res.**, **40**: 477-480, 1980.
- OHTSURU, M.; ISHII, Y.; TAKAI, S.; KOSAKI, G. Sister chromatid exchanges in lymphocytes of a patient treated with cyclophosphamide and vincristine for non-Hodgkins's lymphoma. **Gann**, **73**: 433-438, 1982.
- OIKAWA, A.; SAKAI, S.; HORAGACHI, K.; RYOKO, S.; SAZUNORI, S.; TAZAWA, J.; TOHDA, H.; YOKOYAMA, M.; WAKUI, A. Sensitivities of peripheral lymphocytes from healthy humans and cancer patients to induction of sister chromatid exchanges by genotoxicants. In: Tice R. & Hollaender, A. eds. **Sister Chromatid Exchanges**. Plenum Publishing Corporation, 1984. p. 813-823.
- PAJARI, U. Effect of the antineoplastic agents doxorubicin and



- methotrexate on rat caries and secondary dentin formation. **Scand. J. Dental. Res.**, **97**(1): 14-19, 1989.
- PALMER, C.G. 5-Bromodeoxyuridine-induced constrictions in human chromosomes. **Can. J. Genet. Cytol.**, **12**: 816-820, 1970.
- PARIS CONFERENCE (1971): Standardization in human cytogenetics. **Cytogenet.**, **11**: 313-456, 1972.
- PERES, C.A. & SALDIVA, C.D. **Planejamento de experimentos**. 5a. Sinape, Rio de Janeiro, 1982. 98 p.
- PERRY, P. & EVANS, H.J. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchange. **Nature**: 258, 1975.
- PETERSON, L.G. & POPKIN, M.S. Neuropsychiatric effects of chemotherapeutic agents for cancer. **Psychosomatics**, **21**(2): 141-153, 1980.
- PHILIP, P. & PEDERSEN-BJERGARD, J. Cytogenetic, clinical, and cytologic characteristics of radiotherapy-related leukemias. **Cancer Genet. Cytogenet.**, **31**: 227-236, 1988.
- POHLOVA, H.; CERNA, M.; ROSSNER, P. Chromosomal aberrations, SCE and urine mutagenicity in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. **Mutat. Res.**, **174**: 213-217, 1986.
- POPESCU, H.I.; NEGRU, L.; LANCRAN, I. Chromosome aberrations induced by occupational exposure to mercury. **Arch. Environ. Health**, **34**(6): 461-46, 1979.
- POYEN, D.; De MEO, M.P.; BOTTA, A.; GOUVERNET, J.; DUMENIL, G. Handling of cytostatic drugs and urine mutagenesis. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, **61**: 183-188, 1988.
- PRAGA, C.; BERETTA, G.; LABIANCA, R. Cardiac toxicity from antitumor therapy. **Oncology**, **37**(suppl. 1): 51-58, 1980.
- PRANTERA, G.; PIMPINELLI, S.; ROCCHI, A. Effects of distamycin A on human leucocytes *in vitro*. **Cytogenet. Cell Genet.**, **23**: 103-107, 1979.
- PROMCHAINANT, C. Cytogenetic effect of bleomycin on human leukocytes *in vitro*. **Mutat. Res.**, **28**: 107-112, 1975.
- PSARAKI, K. & DEMOPOULOS, N.A. Induction of chromosome damage and sister-chromatid exchanges in human lymphocyte cultures by antitumour antibiotic neocarzinostatin. **Mutat. Res.**, **204**: 669-673, 1988.
- PURCHASE, I.F.H.; STAFFORD, J.; PADDLE, G.M. Vinyl chloride: an assessment of the risk of occupational exposure. **Fd. Chem. Toxic.**,

25(2): 187-202, 1987.

RABELO-GAY, M.N.; CARVALHO, M.I.O.; OTTO, P.A.; TARJA, H.J. The effects of age, sex and diet on the clastogenic action of cyclophosphamide in mouse bone marrow. *Mutat. Res.*, **158**: 181-188, 1985.

RAJ, A.S. & HEDDLE, J.A. Simultaneous detection of chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges. *Mutat. Res.*, **78**: 253-260, 1980.

RAPOSA, T. Sister chromatid exchange studies for monitoring DNA damage and repair capacity after cytostatic *in vitro* and in lymphocytes of leukemic patients under cytostatic therapy. *Mutat. Res.*, **57**: 241-251, 1978.

RASMUSSEN, K.; SABROE, S.; WOHLERT, M.; INGERSLEV, H.; KAPPEL, B.; NIELSEN J. A genotoxic study of metal workers exposed to trichloroethylene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **60**: 419-423, 1988.

RATHENBERG, R. Cytogenetic effects of cyclophosphamide on mouse spermatogonia. *Humangenetik*, **29**: 135-140, 1975.

REED, E. & JACOB, J. Carboplatin and renal dysfunction. *Ann. Int. Med.*, **110**(5): 409, 1989.

REEVES, B.R. & MARGOLES, C. Preferential location of chlorambucil-induced breakage in the chromosomes of normal human lymphocytes. *Mutat. Res.*, **26**: 205-208, 1974.

REIDY, J.A.; ZHOU, X.; CHEN, A.T.L. Folic acid and chromosome breakage. I. Implications for genotoxicity studies. *Mutat. Res.*, **122**: 217-221, 1983.

REIMER, D. L. & SINGH, S. M. Cyclophosphamide-induced *in vivo* sister chromatid exchanges (SCE) in *Mus musculus*. *Genetics*, **105**: 169-179, 1983.

REYNOLDS, R. D. & LAWRENCE, I. R. Adverse reactions to AMSA in medical personnel. *Cancer Treat. Rep.*, **66**: 1885, 1982.

RICHARDSON, C.R.; HOWARD, C.A.; SHELDON, T.; WILDGOOSE, J.; THOMAS, M.G. The human lymphocyte *in vitro* cytogenetic assay: positive and negative control observations on a 3000 cells. *Mutat. Res.*, **141**: 59-64, 1984.

RIES, F. & KLASTERSKY, J. Nephrotoxicity induced by cancer chemotherapy with special emphasis on cisplatin toxicity. *Am. J. Kidney Dis.*, **8**(5): 368-379, 1986.

ROBISON, T.W.; & GIRI, S.N. Effects of chronic administration of

- dexorubicin on plasma levels of prostaglandins, thromboxane B₂, and fatty acids in rats. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, 19: 213-220, 1987.
- RONNE, M. & ANDERSEN, O. Effect of 5-fluorouracil and 5-fluorouridine on metaphase chromosome structure in human lymphoid cells. **Hereditas**, 88: 127-130, 1978.
- ROSS, G.T. Congenital anomalies among children born of mothers receiving chemotherapy for gestational trophoblastic neoplasms. **Cancer**, 37(2 suppl.): 1043-1047, 1976.
- ROWLEY, J.D. Chromosome changes in leukemic cells as indicators of mutagenic exposure. In: **Chromosomes and cancer**. New York, Academic Press, 1983. p. 139-158.
- ROWLEY, J.D. Chromosome abnormalities in human leukemia as indicators of mutagenic exposure. In: Huberman, E. e Barr, S.A. eds. **Carcinogenesis**, New York, Raven Press, 1985. vol. 10, p. 409-418.
- RUBADUE, C.L. Potential health hazards with antineoplastic drugs. **Occup. Health Nurs**, 33: 363-366, 1985.
- RUCCIONE, K. & WEINBERG, K. Late effects in multiple body systems. **Semin. Oncol. Nurs.**, 5(1): 4-13, 1989.
- RUDEK, Z. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in workers of a metallurgical plant. **Folia Biol.**, 33(3-4): 123-132, 1985.
- RUSSEL, J.A. & POWLES, R.L. Conception and congenital abnormalities after chemotherapy of acute myelogenous leukaemia in two men. **British Med. J.**, 1(6024): 1508, 1976.
- SAKAMOTO-HOJO, E. Ação clastogênica da elipticina em células de mamíferos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1986.
- SAMUELS, B.L.; VOGELZANG, N.J.; KENNEDY, B.J. Severe vascular toxicity associated with vinblastine, bleomycin, and cisplatin chemotherapy. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, 19: 253-256, 1987.
- SANTESSON, B. Different baseline sister chromatid exchange levels in density fractionated human lymphocytes. **Hum. Genet.**, 73: 114-118, 1986.
- SARACCI, R. Occupation. In: Vessey, M.P. e Gray, M. eds. **Cancer Risks and Prevention**. Oxford University Press, 1985. p. 99-118.
- SARTO, F.; CLONFERO, E.; BARTOLUCCI, G.B.; FRANCESCHI, C.;



- CHIRICOLO, M.; LEVIS, A.G. Sister chromatid exchanges and DNA repair capability in sanitary workers exposed to ethylene oxide: evaluation of the dose-effect relationship. **Am. J. Ind. Med.**, 12: 625-637, 1987.
- SAVAGE, J.R.K. Chromosomal aberrations as indicator of mutagenicity. **Clin. Exp. Dermatol.**, 5: 139-145, 1980.
- SCHENCHING, M.S. & BAUER, A. Proceedings induction of chromosomal aberrations by 6-mercaptopurine in different mammalian species. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**: 282, 1974.
- SCHILSKY, R.L.; LEWIS, B.J.; SHERINS, R.J.; YOUNG, R.C. Gonadal dysfunction in patients receiving chemotherapy for cancer. **Ann. Int. Med.**, 93: 109-114, 1980.
- SCHLEUNING, M. & CLEMM, C. Chromosomal aberrations in a newborn whose mother received cytotoxic treatment during pregnancy. **New England J. Med.**, 317(26): 6666-6667, 1987.
- SCHINZEL, A. & SCHIMID, W. Lymphocyte chromosome studies in human exposed to chemical mutagens. The validity of the method in 67 patients under cytostatic therapy. **Mutat. Res.**, 40: 139-166, 1976.
- SCHMAHL, D. Carcinogenic action of anticancer drugs with special reference to immunosuppression. **Cancer**, 40(4 suppl): 1927-1929, 1977.
- SCHMAHL, D.; HABS, M.; LORENZ, M.; WAGNER, I. Occurrence of secondary tumors in man after anticancer drug treatment. **Cancer Treat. Rev.**, 9: 167-194, 1982.
- SCHMID, E. & BAUCHINGER, M. Comparison of the chromosome damage induced by radiation and cytotoxic therapy in lymphocytes of patients with gynecological tumors. **Mutat. Res.**, 21: 271-274, 1973.
- SCHMID, M.; KLETT, C.; MIEDERHOFER, A. Demonstration of a heritable fragile site in human chromosome 16 with distamycin A. **Cytogenet. Cell Genet.**, 28: 87-97, 1980.
- SCHROEDER, T.M. & GERMAN, J. Blom's syndrome and Fanconi's anemia: demonstration of two distinctive patterns of chromosome disruption and rearrangement. **Humangenetik**, 25: 299-306, 1974.
- SCOGNA, D.M. & SMALLEY, R.V. Chemotherapy-induced nausea and vomiting. **Am. J. Nurs.**, 79: 1562-1564, 1979.
- SCOTT, S.A. Antineoplastic drug information and handling guidelines for office-based physicians. **Am. J. Hosp. Pharm.**, 41: 2402-2403, 1984.



- SCOTT, S.A.; SCHROTT, D.B.; LOESCH, G.A. Pharmacy program for improved handling of antineoplastic agents. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **40**: 1179-1182, 1983.
- SEABRIGHT, M. High resolution studies on the pattern of induced exchanges in the human karyotype. *Chromosoma*, **40**: 333-346, 1973.
- SELEVAN, S.G.; LINDBOHN, M.L.; POLSCI, C.; HORNING, R.W. & HEMMINKI, K. A study of occupational exposure to antineoplastic drugs and fetal loss in nurses. *New England J. Med.*, **313**(19): 1173-1178, 1985.
- SERRES, F.J. & MATSUSHIMA, T. Mutagenesis and carcinogenesis by nitropyrenes and cancer chemotherapeutics. *Mutat. Res.*, **164**: 3-8, 1986.
- SEYFER, A.E. & SOLIMANDO, D.A. Toxic lesions of the hand associated with chemotherapy. *J. Hand. Surg.*, **8**: 39-42, 1983.
- SHADE, M.; WOODWARD, M.A.; STEEL, C.M. Chromosome aberrations acquired *in vitro* by human B-cell lines. II. Distribution of break points. *J. N. C. L.*, **65**: 101-109, 1980.
- SHEPHERD, K.M. & SAGE, R.E. DNA binding by adriamycin, melphalan, cis-dichloro-diammineplatinum (II) and nornitrogen mustard assessed by restriction enzyme block. *Res. Comm. C. P.*, **54**(3): 367-378, 1986.
- SHINKAI, T.; SAIJO, N.; EGUCHI, K.; SASAKI, Y.; TAMURA, T.; SAKURAI, M.; SUGA, J.; NAKANO, H.; NAKAGAWA, K.; HONG, W.S.; NAKAJIMA, T. Cytogenetic effect of carboplatin on human lymphocytes. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **21**: 203-207, 1988.
- SIEBER, S.M. & ADAMSON, R.H. Toxicity of antineoplastic agents in man: chromosomal aberrations, antifertility effects, congenital malformations, and carcinogenic potential. *Cancer Res.*, **22**: 57-155, 1975.
- SIEBERT, D. & SIMON, U. Cyclophosphamide: pilot study of genetically active metabolites in the urine of a treated human patient. *Mutat. Res.*, **19**: 65-72, 1973.
- SILVA, A.E. Estudo cromossômico em linfócitos de indivíduos com talassemia do tipo beta, submetidos a condições de cultivo variáveis. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 1985.
- SINGH, B. & GUPTA, R.S. Mutagenic responses of thirteen anticancer



- drugs on mutation induction at multiple genetic loci and on sister chromatid exchanges in chinese hamster ovary cells. **Cancer Res.**, **43**: 577-584, 1988.
- SINHA, A.K.; LINS COMBE, V.A.; GOLLAPUDI, B.B.; McCLINTOCK, M.L.; FLAKEM R.E.; BODNER, K.M. The incidence of spontaneous cytogenetic aberrations in lymphocytes cultured from normal humans for 48 and 72 h. **Can. J. Genet. Cytol.**, **26**: 528-531, 1984.
- SNOPE, A.; & RARY, J. Cell-cycle duration and sister chromatid exchange frequency in cultured human lymphocytes. **Mutat. Res.**, **63**: 345-349, 1979.
- SOGNIER, M.A. & HITTELMAN, W.N. Mitomycin-induced chromatid breaks in HeLa cells: a consequence of incomplete DNA replication. **Cancer Res.**, **46**: 4032-4040, 1986.
- SOKOLOFF, B. Can toxic chemotherapy cure cancer? **Growth**, **41**(4): 237-240, 1977.
- SORSA, M. & YAGER, J.W. Cytogenetic surveillance of occupational exposures. In: Obe, G. e Basher, A. eds. **Cytogenetics: basic and applied aspects**. Berlin, Springer-Verlag, 1987. p. 345-360.
- SOTANIEMI, E.A.; SUTINEN, S.; ARRANTO, A.J. Liver damage in nurses handling cytostatic agents. **Acta Med. Scand.**, **214**: 181-189, 1983.
- SPEIT, G.; SPEIT, D.; VOGEL, W. A comparative investigation of the antimitotic action of 2-mercaptoethanol and colcemid on V-79 chinese hamster cells. **Cell Tissue Kinet.**, **15**: 413-421, 1982.
- SRB, V.; KUBZOVA, E. ; KUBIKOVA, K. Chromosome aberration and mitotic activity in human peripheral blood lymphocytes following **in vitro** action of platinum cytostatic cis-DDP and EM-pt. **Neoplasma**, **33**(4): 465-469, 1986.
- STAINO, N.; DGALLELLI, J.F.; ADAMSON, R.H.; THORGEIRSSON, S.S. Lack of mutagenic activity in urine from hospital pharmacists admixing antitumour drugs. **Lancet**, **1**(8220): 615-616, 1981.
- STAJICH, G.V.; BARNETT, C.W.; TURNER, S.V.; HENDRSON, C.A. Protective measures used by oncologic office nurses handling parenteral antineoplastic agents. **Oncol. Nurs. Forum**, **13**(6): 47-50, 1986.
- STELLMAN, J.M.; AUFIERO, B.M.; TAUB, R.N. Assessment of potential exposure to antineoplastic agents in the health care setting. **Prev. Med.**, **13**: 245-255, 1984.
- STEPHENS, L.C.; WANG, Y.M.; SCHULTHEISS, T.E.; JARDINE, J.H. Enhanced cardiotoxicity in rabbits treated with verapamil and

- adriamycin. **Oncology**, 44: 302-306, 1987.
- STILLER, A.; OBE, G.; BOLL, I.; PRIBILLA, W. No elevation of the frequencies of chromosomal alterations as a consequence of handling cytostatic drugs. Analyses with peripheral blood and urine of hospital personnel. **Mutat. Res**, 121: 253-259, 1983.
- STOJIMIROVIĆ, E; AJDARIĆ, B.; KORIC, D.; GARZICIC, B. Adverse effects of cyclophosphamide, metotrexate and cytosine arabinoside on human chromosomes. **Bilt. Hematol. Transfuz.**, 7: 27-37, 1979.
- STOLAR, M. & POWER, L.A. The 1983-84 ASHP practice spotlight: safe handling of cytotoxic drugs. **Am. J. Hosp. Pharm.**, 40: 1161, 1983.
- STOLAR, M.H.; POWER, L.A.; VIELE, C.S. Recommendations for handling cytotoxic drugs in hospitals. **Am. J. Hosp. Pharm.**, 40: 1163-1171, 1983.
- STONER, G.D.; SHIMKIN, M.B.; KNIZEFF, A.J.; WEISBURGER, J.H.; WEISBURGER, E.K.; GORI, G.B. Test for carcinogenicity of food additives and chemotherapeutic agents by the pulmonary tumor response in strain a mice. **Cancer Res**, 33: 3069-3085, 1973.
- STUCKER, I.; HIRSCH, A.; DOLOY, T.; BASTIE-SIGEAC, I.; HEMON, D. Urine mutagenicity chromosomal abnormalities and sister chromatid exchanges in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. **Int Arch Occup Environ Health**, 57: 195-205, 1986.
- SUTHERLAND, G.R. & HECHT, F. In: **Fragile sites on human chromosomes**. New York, Oxford University Press, 1985. p. 226.
- SZNOL, M.; OHNUMA, T.; HOLLAND, J.F. Hepatic toxicity of drugs used for hematologic neoplasia. **Sem. Liv. Dis.**, 7(3): 237-256, 1987.
- TAGUCHI, T. Enhancement of bleomycin-induced chromosome damage in a human leukemia T-cell line. **Jpn. J. Genet.**, 62: 109-117, 1987.
- TAKESHITA, T. & CONNER, M.K. Accumulation and persistence of cyclophosphamide-induced sister chromatid exchange in murine peripheral blood lymphocytes. **Cancer Res.**, 44: 3820-3824, 1984.
- TALCOTT, J.A.; GARNICK, M.B.; PAUL, P.C.; GODLESKI, J.J.; RICHIE, J.P. Nodular pneumonitis after cancer chemotherapy. **Ann. Int. Med.**, 110(1): 91, 1989.
- TAMURA, H.; SUGIYAMA, Y.; SUGAHARA, T. Effect of bleomycin on the chromosomes of human lymphocytes at various cell phases. **Gann**, 65: 103-107, 1974.
- THOMAS, J.B. & KALTSIKES, P.J. The effect of colchicine on chromosome pairing. **Can. J. Genet. Cytol.**, 19: 231-249, 1977.



- THOMPSON, D.F. PVC gloves for handling antineoplastic. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **39**: 227, 1982.
- THOMSON, K. & MIKKELSEN, H.I. Protective capacity of gloves used for handling of nitrogen mustard. *Contact Dermatitis*, **1**: 268-269, 1975.
- TOHDA, H. & OIAKAWA, A. Proliferation-dependent reduction of sister-chromatid exchange frequency induced by mitomycin C in human lymphoblastoid cells and its suppression by inhibitors of DNA replication. *Mutat. Res.*, **163**: 167-174, 1986.
- TOMINAGA, K.; SHINKAI, T.; SAIJO, N.; EGUCHI, K.; SASAKI, Y.; SAKURAI, M.; SUGA, J.; NAKAJIMA, T.; OCHI, H.; SUEMASU, K: Cytogenetic effects of multiagent chemotherapy on the peripheral lymphocytes of patients with small cell lung cancer. *Jpn. J. Cancer Res.*, **77**: 1241-1248, 1986.
- TOPINKOVA, E. & SRAM, R.J. Cytogenetic examination of bone marrow cells and peripheral lymphocytes in rats exposed to cyclophosphamide. *Fol. Biol.*, **28**: 302-310, 1982.
- TORTORICI, M. Precautions followed by personnel involved with the preparation of parenteral antineoplastic medications. *Hosp. Pharm.*, **15**: 293-301, 1980.
- TSONGAS, T. Occupational factors in the epidemiology induced lymphoid and hemopoietic cancers. In: Irons, R.d. ed. *Toxicology of the Blood and Bone Marrow*. New York, Raven Press, 1985. p. 149-177.
- TUCKER, J.D.; ASHWORTH, L.K.; JOHNSTON, G.R.; ALLEN, N.A.; CARRANO, A.V. Variation in the human lymphocyte sister-chromatid exchange frequency: results of a long-term longitudinal study. *Mutat. Res.*, **204**: 435-444, 1988.
- TUKEY, J.W. In: *Exploratory data analysis*. Massachusetts, Addison Wesley, 1977.
- TURNBULL, D.; POPESCU, N.C.; DiPAOLO, J.A.; MYHR, B.C. Cis-platinum (II) diamine dichloride causes mutation, transformation, and sister-chromatid exchanges in cultures mammalian cells. *Mutat. Res.*, **66**: 267-275, 1979.
- URBA, S. & FORASTIERE, A.A. Retrobulbar neuritis in a patient treated with intraarterial cisplatin for head and neck cancer. *Cancer*, **62**: 2094-2097, 1988.
- VAINIO, H. & SORSA, M. Aplication of cytogenetic methods for biological monitoring. *Ann. Rev. Public. Health*, **4**: 403-407, 1983.



VALAGUSSA, P.; TANCINI, G.; BANADONNA, G. Second malignancies after CMF for resectable breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 5(8): 1138-1142, 1987.

VAUGHAN, T.L.; STRADER, C.; DAVIS, S.; DALING, J.R. Formaldehyde and cancers of the pharynx, sinus and nasal cavity: I. Occupational exposures. *Int. J. Cancer*, 38: 677-683, 1986.

VENITT, S.; CROFTON-SLEIGH, C.; HUNT, J.; SPEECHLEY, V.; BRIGGS, K. Monitoring exposure of nursing and pharmacy personnel to cytotoxic drugs: urinary platinum as markers of absorption. *Lancet*, 1(8368): 74-77, 1984.

VERWEIJ, J.; KERPEL-FRONIUS, S.; STUURMAN, M.; van TRIET, A.J.; van HATTUM, L.; de VRIES, J.; PINEDO, H.M. Mitomycin C-induced organ toxicity in Wistar rats: a study with special focus on the kidney. *Cancer Res. Clin. Oncol.*, 114: 137-141, 1988.

VICENTINI, V.E.P. Ação do extrato de sementes de *Strobilodendron obovatum* Benth sobre raiz de cebola, medula óssea de rato e linfócitos humanos (TCIs). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, 1984.

VIEIRA, E.G. Efeitos citogenéticos da tintura de *Ibaya occidentalis* em culturas de linfócitos humanos. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 1983.

VIG, B.K. Mutagenic effects of some anticancer antibiotics. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 3: 143-160, 1979.

VOGEL, R. & SPIELMAM, H. Spontaneous and cyclophosphamide-induced sister-chromatid exchanges in diploid and endoreduplicated tetraploid metaphases of preimplantation mouse embryos. *Mutat. Res.*, 192: 137-140, 1987.

WAKSVIK, H.; KLEPP, O.; BROGGER, A. Chromosome analyses of nurses handling cytostatic agents. *Cancer Treat. Rep.*, 65(7-8): 607-610, 1981.

WALDEN, P.A.M.; DENT, J.; BAGSHAW, K.D. Fatal hypoglycemia after cytotoxic chemotherapy. *Cancer*, 44(6): 2029-2031, 1979.

WANG, L.W.; ZHANG, S.W.; YANG, T.; DENG, X.J.; WU, G.Y.; LI, W.C. Nephrotoxicity of cisplatin. *A. Pharmacol. Sinica*, 8(2): 166-169, 1987.

WHITE, A.E.; TAKEHISA, S.; EGER, E.; WOLFF, S.; STEVENS, W. Sister chromatid exchanges induced by inhaled anesthetic. *Anesthesiol.*,

50: 426-430, 1979.

WILSON, J.P. & SOLIMANDO, D.A. Aseptic technique as a safety precaution of antineoplastic agents. *Hosp. Pharm.*, **16**: 575-581, 1981.

WILLSON, J.K.V. Pulmonary toxicity of antineoplastic drugs. *Cancer Treat. Rep.*, **62**(12): 2003-2008, 1978.

WOLFF, S. & PERRY, P. Differential staining of sister chromatid exchange with or without autoradiography. *Chromosoma*, **48**: 341-353, 1974.

WULF, H.C.; IVERSEN, A.S.; HUSUN, B.; NIEBUHR, E. Very low sister-chromatid exchange rate in seventh-Day Adventists. *Mutat. Res.*, **162**: 131-135, 1986.

XODO, L.E.; RUGGIERO, J.; QUADRIFOGLIO, F. On the interaction of daunomycin with synthetic altering DNAs. Sequence specificity and polyelectrolyte effects on the intercalation. *Equilibrium Biopol.*, **27**: 1839-1857, 1988.

YAGER, J.W.; COHN, K.L.; SPEAR, R.C.; FISHER, J.M.; MORSE, L. Sister-chromatid exchanges in lymphocytes of anatomy students exposed to formaldehyde-embalming solution. *Mutat. Res.*, **174**: 135-139, 1986.

YAMAMOTO, R.S.; RICHARDSON, H.L.; WEISBURGER, E.K.; WEISBURGER, J.H.; BENJAMIN, T.; BAHNER, C.R. Carcinogenicity of proposed cancer chemotherapeutic agents with stilbene-arylnitrosamine structures. *J. Nat. Cancer Inst.*, **51**(4): 1343-1345, 1973.

YODAIKEN, R.E. & BENNETT, D. OSHA work-practice guidelines for personnel dealing with cytotoxic (antineoplastic) drugs. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **43**: 1193-1204, 1986.

ZACCARIA, A.; ALIMENA, G.; BACCARANI, M.; BILLSTROM, R.; CARBONELL, F.; CASTOLDI, G.L.; FUSCALDO, ; HECHT, F.; HOSSFELD, D.K.; MITELMAN, F.; ROSTI, G.; SANDBERG, A.A.; TASSINARI, A.; TESTONI, N.; TARA, S. Cytogenetic analyses in 89 patients with secondary hematologic disorders - Results of a cooperative study. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **26**: 65-74, 1987.

ZELLMER, W.A. Reducing occupational exposure to potential carcinogens in hospitals. *Am. J. Hosp. Pharm.*, **38**: 1679, 1981.

ZHANG, S.; HUANG, J.H.; CHEN, P.L.; LI, C.H. Sister chromatid exchanges and cell cycle patterns of normal human bone marrow cells after *in vitro* exposure to cytostatic drugs. *Cancer Genet. Cytogenet.*, **31**: 157-163, 1988.

ZIMMER, C.H.; REINERT, K.E.; LUCK, G.; WAHNERT, U.; LOBER, G.;

THRUM, H. Interaction of the oligopeptide antibiotics netropsin and distamycin A with nucleic acids. **J. Mol. Biol.**, 58: 329-348, 1971.

ZIMMERMAN, P.F.; LARSEN, R.K.; BARKLEY, E.W. Recommendations for the safe handling of injectable antineoplastic drug products. **Am. J. Hosp. Pharm.**, 38: 1693-1695, 1981.



