

Monitorização biológica por método citogenético em indivíduos expostos profissionalmente a agentes antineoplásicos

ENY MARIA GOLONI-BERTOLLO¹, ANTONIO JOSÉ MANZATO², MARILEILA VARELLA-GARCIA³

Trabalho realizado no Depto. de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP, São José do Rio Preto, SP.

Apresentado parcialmente em: V Semana de Oncologia de São José do Rio Preto, SP, 1988; XXXI Reunião Anual de Cancerologia do Hospital A.C. Camargo, São Paulo, 1989; 16º Colóquio de Incentivo à Pesquisa, São José do Rio Preto, SP, 1989. Apoio Financeiro: CNPq.

Resumo

Enfermeiras, atendentes e assistentes de enfermagem que preparam e aplicam antineoplásicos em unidades hospitalares apresentaram freqüências aumentadas de anomalias e de trocas entre cromátides-irmãs (TCI) em cromossomos de linfócitos periféricos. Não foi detectada associação entre as freqüências desses fenômenos e os tipos de dispositivos de proteção ou o tempo de exposição aos antineoplásicos, possivelmente devido à multiplicidade de variáveis atuantes, o que dificultou a interpretação do papel de fatores isolados. No entanto, foi detectada uma associação entre o grau de escolaridade e a freqüência de anomalias citogenéticas, que é menor nos profissionais de nível superior que naqueles com formação técnica ou prática. Além disso, a freqüência de anomalias cromossômicas e de TCI foram menores quando as profissionais expostas manuseavam menos freqüentemente os antineoplásicos mais tóxicos. A amostra de aplicadores de antineoplásicos analisada, portanto, pertence a um grupo de risco para a ocorrência de lesões no material genético, indicando a necessidade de que sejam sempre observadas as normas de segurança previstas para o manuseio desses compostos e sugerindo a conveniência da monitorização biológica periódica nos indivíduos a eles profissionalmente expostos.

Unitermos: agentes antineoplásicos; quimioterapia; risco ocupacional; aberrações cromossômicas; trocas entre cromátides-irmãs

Introdução

Os agentes químicos usados no tratamento do câncer, usualmente designados como antineoplásicos, inibem o crescimento celular por atuarem sobre as moléculas que controlam a divisão e o desenvolvimento das células, isto é, o ácido desoxirribonucléico (DNA), o ácido ribonucléico (RNA) e as proteínas. O emprego terapêutico dos antineoplásicos é proposto

devido à elevada taxa mitótica das células cancerosas. No entanto, eles também afetam células normais, algumas das quais se dividem até mais rapidamente que as tumorais, como é o caso das células do tecido hematopoietico, das mucosas oral e internas, dos folículos capilares e da pele. Por isso, os agentes antineoplásicos podem ser responsáveis por diversos efeitos nos indivíduos a eles expostos, como náuseas, vômito, alopecia, hiperpigmentação e reações

¹Mestre em Genética, Auxiliar de Ensino do Departamento de Ciências Básicas, Faculdade Regional de Medicina, São José do Rio Preto, SP; ²Mestre em Estatística, Professor Assistente do Departamento de Ciências de Computação e Estatística, IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, SP; ³Professor Titular do Departamento de Biologia, IBILCE/UNESP, São José do Rio Preto, SP. Endereço do autor para correspondência: Rua Dr. Lemos Torres, 259 - Jardim Bosque da Saúde - São José do Rio Preto - SP - CEP 15090.

cutâneas [1], assim como efeitos tóxicos em diversos órgãos, como coração [2], rim [3], pulmões [4], fígado [5], pâncreas [6] e olhos [7]. São também responsáveis por redução da fertilidade [8] e distúrbios na prole [9].

A carcinogenicidade dos antineoplásicos, ou seja, a potencialidade que esses agentes têm de provocar ou estimular o desenvolvimento de câncer, já foi detectada em estudos experimentais em animais [10] e em pacientes a eles terapêuticamente expostos [11]. A sua potencialidade mutagênica ou genotóxica, isto é, a capacidade de induzir mudanças no material genético, também já foi evidenciada em estudos experimentais *in vitro*, em células cultivadas em laboratório [12-15], e em ensaios *in vivo*, em animais previamente tratados com alguns desses compostos [12, 16]. Alterações no material genético também foram observadas em pacientes terapêuticamente expostos aos antineoplásicos [17-19]. Nesses estudos, os parâmetros mais comumente analisados foram as frequências de aberrações cromossômicas estruturais e de trocas entre cromátides-irmãs (TCI) em cromossomos de linfócitos periféricos, que em muitos casos foram encontrados em frequências significativamente aumentadas.

Em relação aos indivíduos expostos profissionalmente aos antineoplásicos, há registros na literatura de enfermeiros e farmacêuticos que apresentaram sintomas clínicos coincidentes com os dos pacientes submetidos à quimioterapia, como náuseas, vômito, vertigens, dores de cabeça, ferimentos na mucosa nasal, perda de cabelo, manifestações alérgicas, toxicidade hepática e problemas neurológicos e respiratórios [20-23]. Esses achados evidenciaram a ocorrência de absorção dos antineoplásicos, o que também pôde ser comprovado pela detecção, em frequência significativamente elevada, de metabólitos de antineoplásicos na urina de enfermeiras atuantes em serviços de oncologia [24, 25].

Porém, apesar de todos os problemas que podem causar, os agentes antineoplásicos são indispensáveis para o controle de neoplasias e vêm sendo intensamente usados. Por isso, como forma de monitorização biológica em indivíduos ocupacionalmente expostos, foi desenvolvido o presente estudo citogenético em aplicadores de quimioterápicos de quatro hospitais de três cidades do Estado de São Paulo, Brasil (São José do Rio Preto, Barretos e São Paulo).

Material e Métodos

O estudo cromossômico foi realizado em 45 mulheres, agrupadas em três amostras: amostra A, constituída por 15 enfermeiras, auxiliares e atendentes de enfermagem, aplicadoras de antineoplásicos; amostra B, composta por 15 enfermeiras não-aplicadoras

de antineoplásicos; e amostra C, composta por 15 mulheres que exerciam atividades administrativas e domésticas, sem exposição a agentes químicos. A idade e a unidade de trabalho de cada indivíduo da amostra A, assim como o tempo de atividade profissional, o período de exposição semanal dos antineoplásicos, os dispositivos de proteção usados, os agentes antineoplásicos mais utilizados e a forma de administração são apresentados na Tabela 1. Os indivíduos da amostra B que atuavam em centros cirúrgicos (dois), unidades de terapia intensiva (dois), berçário (dois) e serviço de hemodiálise (um) usavam avental, gorro, luvas, máscara e propé como dispositivos de proteção, e os que atuavam em sala de pré-parto (um), postos de enfermagem (quatro) e no setor de pediatria (três) não usavam quaisquer desses dispositivos. Os componentes dessa amostra tinham tempo de serviço hospitalar variável de 2 meses a 15 anos, com cerca de 44 horas de atividades semanais. Todas as mulheres selecionadas para o estudo eram saudáveis, com dieta alimentar usual, não fumavam e não consumiam bebida alcoólica. Além disso, não tinham recebido radiação diagnóstica ou terapêutica, feito uso de medicamentos ou contraído doença viral em período próximo à realização do estudo.

A análise cromossômica foi feita em linfócitos de sangue venoso periférico colhido duas a três horas após a manipulação dos antineoplásicos. Os linfócitos foram cultivados a 37°C por 72 horas, em meio de cultura RPMI 1640 (Cultilab), enriquecido com 20% de soro AB humano, após estimulação com fito-hemaglutinina. Adicionou-se colquicina uma hora antes da hipotonização com KCl a 0,075 M e procedeu-se à fixação em metanol: ácido acético (3:1 v/v). Após a montagem das lâminas, estas foram codificadas para análise em teste cego. A avaliação dos efeitos genotóxicos foi feita por dois critérios: (a) pela frequência de aberrações cromossômicas estruturais e numéricas, em 100 metáfases coradas com solução de Giemsa a 5%, e (b) pela frequência de trocas entre cromátides-irmãs (TCI), em 50 metáfases de segundo ciclo celular de culturas expostas à 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU), que apresentam coloração diferencial entre as cromátides-irmãs após tratamento segundo técnica descrita em Korenberg & Freedlender [26]. Os eventos anômalos foram classificados de acordo com padronização internacional [27]. Como as variáveis analisadas não apresentam distribuição normal, as frequências de anomalias cromossômicas foram submetidas à transformação angular de Fisher (arcoseno) e as de TCI à transformação de raiz quadrada.

Resultados

As frequências de anomalias cromossômicas estruturais e numéricas encontradas em cada amostra,

Tabela 1. Caracterização das profissionais 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, VCR	CF, cis-Pt, ET, MTC,	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, BLM, 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, BLM, BCNU, CF, ET, 5-FU, MTC, MTX, TT, VCR	EV, IM, SC, VO
A8	U2	Auxiliar de enfermagem	34	36	6 meses*	A, L, M, O	ADM, Ara-C, BLM, BCNU, CF, DN, 5-FU, MTX, VCR, VLB	EV, IM, SC
A9	U2	Auxiliar de enfermagem	36	36	6 meses*	A, L*, M, O	ADM, Ara-C, BLM, BCNU, CF, DN, 5-FU, MTX, VCR, VLB	EV, IM, SC
A10	U4	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	U4	Enfermeira	33	42	1 ano	L	ADM, Ara-C, CF, cis-Pt, DN, MTX, VCR, VP	EV, IM, IV, SC, VO
A12	U4	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	U4	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, BLM, CF, cis-Pt, MTX, VCR, VP	EV, IM, VO
A15	U1	Enfermeira	28	16	6 meses	A, L, M	ADM, BLM, CF, cis-Pt, MTX, VCR, VP	EV, IM

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

ADM = adriamicina; Ara-C = aractinomicina; BLM = 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; TT = tiotepa; VCR = vincristina; VLB = vimblastina; VP = vepesid

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

assim como as frequências percentuais de células com aberrações cromossômicas e os resultados da análise de variância para comparação da homogeneidade entre as amostras, são apresentados na Tabela 2. As quebras e falhas cromossômicas e cromatídicas foram os eventos mais frequentes nas três amostras. As anomalias estruturais de outros tipos, mais comuns na amostra A, foram cromossomos com deficiências ou translocações, fragmentos acêntricos, *double minutes* e rearranjos complexos, alguns dos quais

são ilustrados na Figura 1. As anomalias numéricas foram identificadas como trissomias de diversos cromossomos. A homogeneidade das frequências de metáfases com anomalias entre as três amostras foi rejeitada por análise de variância, sendo que a amostra A difere das amostras B e C, e as amostras B e C são semelhantes, pela comparação múltipla de Tukey ($dms_{0,01} = 0,11$).

As frequências médias de TCI por célula de cada amostra também constam da Tabela 2, e a Figura 2

Tabela 2. Frequências de aberrações cromossômicas, em 1.500 células, e de trocas entre cromátides-irmãs (TCI), em 750 células, nas amostras de aplicadores (A), não-aplicadores (B) e controles (C) (F para homogeneidade das médias; *: $P < 0,01$).

Amostra	Eventos anômalos			Numéricos	Metáfases com anomalias (%)	TCI/célula		
	Estruturais					\bar{X}	\pm	Sx
	Quebras	Falhas	Outros					
A	80	36	12	4	8,3	15,71	0,98	
B	22	9	3	3	2,5	11,26	0,51	
C	22	6	7	3	2,3	9,26	0,42	
F					19,01*	22,16*		

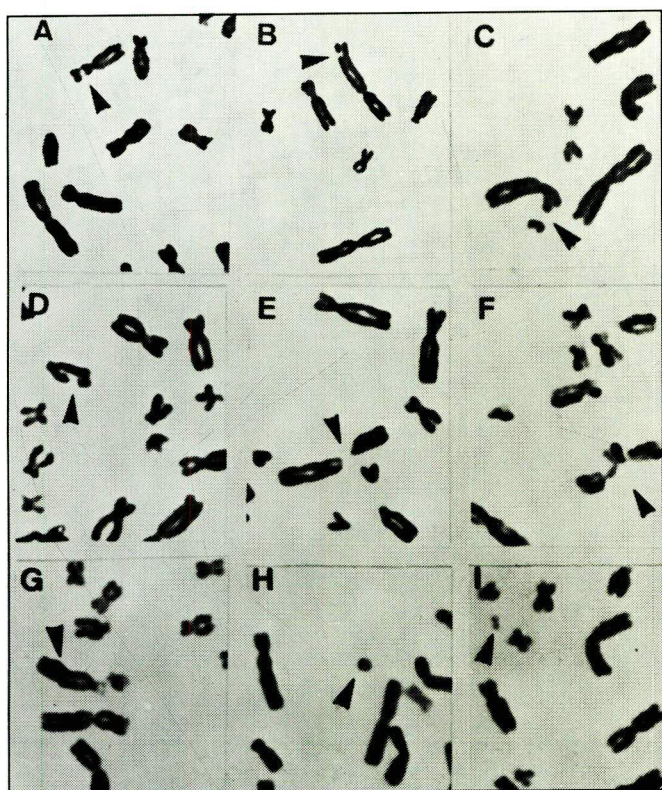


Figura 1. Metáfases parciais com: (A) falha cromossômica em indivíduo da amostra C; (B) falha cromatídica; (C) quebra cromossômica; (D) quebra cromatídica; (E) quebra centromérica; (F) figura trirradial; (G) cromossomo do grupo D com o braço longo aumentado; (H) fragmento cromossômico; (I) "double-minutes",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

ilustra uma metáfase com 18 TCI. Rejeitada a homogeneidade das médias entre as amostras por análise de variância, verificou-se pela comparação múltipla de Tukey que a amostra A difere das amostras B e C, e as amostras B e C são semelhantes entre si ($dms_{0,01} = 0,42$).

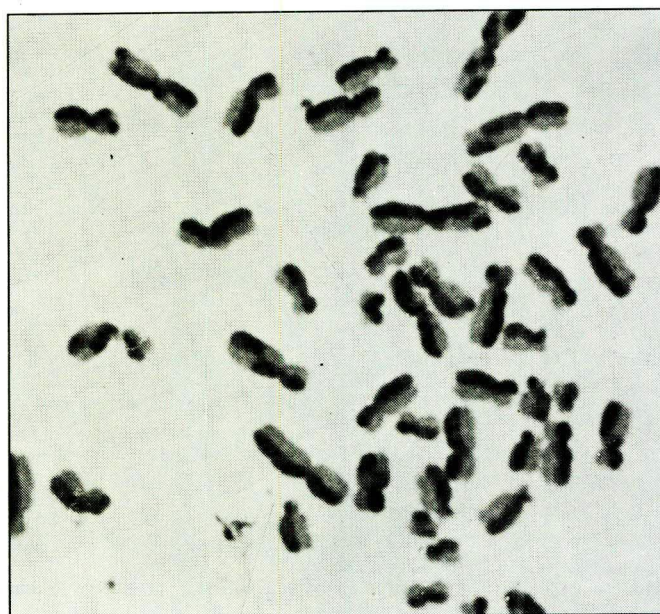


Figura 2. Trocas entre cromátides-irmãs: metáfase completa com 18 TCI.

Não foi detectada correlação entre o tempo de exposição dessas profissionais aos antineoplásicos, avaliado em meses, e as frequências de células com anomalias cromossômicas ($r = 0,22$; $p > 0,05$), ou com as frequências médias de TCI por célula ($r = 0,30$; $p > 0,05$). Os componentes da amostra A foram, então, agrupados de acordo com vários critérios, conforme discriminado na Tabela 3. Nessa tabela são também apresentados, para cada grupo, o número de indivíduos, as frequências percentuais de metáfases com anomalias e as médias de TCI/célula, além dos valores de t para comparação entre os grupos. O indivíduo da amostra A que não usava qualquer dispositivo de proteção foi excluído da análise que considerou tal aspecto. Foram considerados como mais tóxicos os antineoplásicos que são degradantes,

alquilantes e intercalantes da molécula de DNA. Verifica-se, dos dados da Tabela 3, que a duração da exposição semanal ou total, assim como o uso de maior variedade de dispositivos de proteção não parecem ter tido efeito nos resultados. Contudo, a frequência de células com anomalias cromossômicas

nificativamente maiores de aberrações cromossômicas e de TCI, nos aplicadores de antineoplásicos que nas amostras controle, e de enfermeiras com atuação em outras áreas. Resultados de outras investigações que objetivaram monitorizar biologicamente aplicadores de antineoplásicos são resumidos nas Tabelas 4 e

Tabela 3. Critérios utilizados para as divisões da amostra A em grupos, para avaliação dos possíveis fatores relacionados com as frequências de TCI e de anomalias cromossômicas (*t* para diferença entre médias; *: $P < 0,05$).

Critério de análise	Número de indivíduos	Metáfases com anomalias				TCI/célula			
		\bar{X}	\pm	Sx	<i>t</i>	\bar{X}	\pm	Sx	<i>t</i>
Período de exposição									
< 12 meses, < 16 h semanais	4	7,00	1,23		15,34	2,09			
< 12 meses, > 16 h semanais	4	10,75	2,56	1,25	17,82	1,28			1,04
< 12 meses	8	8,88	1,49		14,72	1,48			
> 12 meses, > 16 h semanais	7	7,57	1,36	0,64	16,58	1,31			0,94
Dispositivos de proteção usados									
Apenas luvas	6	6,00	0,96		15,32	2,11			
Avental, luvas e máscaras	8	9,63	1,52	1,84	16,22	1,05			0,48
Manipulação de antineoplásicos mais tóxicos									
< 4 tipos	11	7,00	0,95		14,40	1,02			
> 4 tipos	4	11,75	1,93	2,37*	21,80	1,24			2,50*
Escolaridade									
Formação em curso superior	7	6,14	0,80		15,42	1,23			
Formação técnica prática	8	10,13	1,49	2,13*	15,97	1,57			0,23

é menor nas enfermeiras com curso superior do que nas auxiliares e atendentes de enfermagem. Também as frequências de metáfases com anomalias cromossômicas e de TCI são maiores nos indivíduos que manipulavam mais do que quatro tipos dos agentes antineoplásicos considerados mais tóxicos.

Discussão

A potencialidade mutagênica, carcinogênica e teratogênica dos agentes antineoplásicos já foi comprovada, como anteriormente mencionado. A maioria deles induz aberrações cromossômicas em testes *in vitro* e em indivíduos terapêuticamente expostos, e muitos induzem aumento de frequência de TCI. No entanto, a pesquisa dos efeitos mutagênicos dos antineoplásicos, em profissionais que os preparam e aplicam, foi menos freqüente e sem resultados concordantes.

Neste estudo foram encontradas frequências sig-

5. Na Tabela 4 agruparam-se 12 pesquisas realizadas nos EUA e em países da Europa, que avaliaram a mutagenicidade induzida por componentes excretados na urina dos indivíduos expostos, através de testes em sistemas microbianos, como os de indução ou reversão de mutações em linhagens de *Escherichia coli* ou de *Salmonella typhimurium*. Na Tabela 5 resumiram-se as condições de atuação profissional e os achados citogenéticos de 10 estudos desenvolvidos com células dos próprios indivíduos expostos, um deles realizado nos EUA, o presente estudo realizado no Brasil e os demais em países europeus.

Das 12 investigações referidas na Tabela 4, quatro deram resultados negativos, isto é, não detectaram compostos de efeitos mutagênicos na urina dos indivíduos testados [28-31], e em seis os resultados foram positivos, isto é, foram detectados os referidos efeitos mutagênicos [32-38]. Em duas investigações [39, 40] os resultados variaram com os diferentes tipos de proteção utilizados, sendo positivos quando os profissionais manipulavam os compostos em câmara

Tabela 4. 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	Proteção	Resultado
Falck et al., 1979	Helsinki Finlândia	CCNU, CF, BLM, DC, DX, LM, VCR	7		+
Staino et al., 1981	Bethesda EUA	Act-D, BLM, CF DN, DX, 5-FU, MTX, VCR	8	V	-
Anderson et al., 1982	Houston EUA	Não especificados	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	Houston EUA	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	Milão 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	Não especificados	38		+
Stucker et al., 1986	Paris França	CF, cis-Pt, ET, 5-FU	17		+
Caudell et al., 1988	Los Angeles EUA	Ara-C, BS, CF	8	L	+
Poyen et al., 1988	Marselha França	ADM, BLM, CF, cis-Pt, ET, MTX, VCR	29	L, M, V	-

ADM = adriamicina; Act-D = actinomicina-D; Ara-C = citosina arabinosideo; 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

de fluxo laminar horizontal e negativos quando o faziam em câmara com sistema vertical. Em nenhuma dessas pesquisas os resultados puderam ser associados com os agentes antineoplásicos manipulados, pois esses eram em grande número e de variadas classes na maior parte dos casos, não tendo sido sequer especificados em duas das publicações [35, 39]. Por outro lado, é importante destacar que, dentre as seis investigações que detectaram efeitos mutagênicos, em apenas uma os indivíduos usavam algum dispositivo de proteção (luvas [38]) e, das quatro com resultados negativos, em apenas uma [29] os indivíduos não usavam qualquer proteção, sendo que nos demais casos eram usadas luvas e máscaras, ou o trabalho de preparação dos compostos era feito em câmara de fluxo laminar. Esses resultados indicam a

importância do uso dos dispositivos de proteção.

Todavia, os resultados dos testes em que se utilizam células procariontes para avaliação de mutagenese, apesar de serem úteis como indicadores de contaminação, não podem ser diretamente extrapolados para os organismos eucariontes, devido às amplas diferenças no arranjo do material genético. Por isso, são muito importantes os testes citogenéticos em células humanas, principalmente dos próprios indivíduos expostos. A análise das anomalias na estrutura dos cromossomos é o parâmetro citogenético mais eficaz na identificação de agentes genotóxicos. Todavia, já foi evidenciado que a análise das TCI pode detectar alterações produzidas por concentrações menores de determinados agentes químicos que as requeridas para a indução de aberrações cromossô-

Tabela 5. 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	Resultado	
						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, BLM, CF, DC, ET, 5-FU, IF, CCNU, MCT, MM, Proc, TT, VCR	10	L, M	2.150 horas	+	+
Stiller et al., 1983	Berlim Alemanha	ADM, Ara-C, BLM, CF, cis-Pt, DN, 5-FU, MTX, VCR	11		1.078 horas	-	-
			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	Milão Itália	Ara-C, CF, DC, IF, MCT, MTX, VCR, VD, VLB	21	L, M	1 ano		-
Jordan et al., 1986	Califórnia EUA	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	Não especificados	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	Paris França	CF, cis-Pt, DC, DX, 5-FU, VCR	30		4 anos	-	-
Presente estudo, 1990	São Paulo Brasil	ADM, Ara-C, BLM, BCNU, CF, cis-Pt, DB, ET, 5-FU, IF, L-aspar, MTC, MTX, TT, VCR, VLB, VP	15	A, L, M, O	2 meses a 15 anos	+	+

*ADM = adriamicina; Act-D = actinomicina-D; Ara-C = aractinomicina-C; BCNU = carmustina; BLM = 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; M = máscaras; O = óculos

micas [41], sendo por isso a análise desse parâmetro também recomendada. As trocas entre cromátides-irmãs são quebras em locos idênticos das duas cromátides de um cromossomo, seguidas pelo intercâmbio de segmentos e pelo reparo da molécula. Frequências elevadas de TCI indicam, portanto, que o material genético está sendo mais lesado, mesmo que não ocorra um aumento na frequência de quebras cromossômicas, pois essas foram corrigidas pelo sistema de reparo.

Das 10 investigações resumidas na Tabela 5, foram observadas alterações citogenéticas em quatro [35, 42-44], não tendo sido encontrados, no presente trabalho, efeitos mutagênicos nas outras cinco [30, 36, 45-47]. Esses achados, à primeira vista, não permitem uma conclusão clara sobre o potencial de mutagenicidade ao qual os profissionais expostos aos antineoplásicos estão submetidos. No entanto, há

diversos aspectos a serem considerados na discussão desses resultados. As investigações foram realizadas em locais diferentes e com grande variação nas condições de trabalho dos profissionais em análise. Além disso, os agentes antineoplásicos manipulados não foram os mesmos e geralmente enquadravam-se em inúmeras classes químicas, e os períodos de exposição também foram variáveis. Neste estudo e em outros quatro [30, 43, 45, 46], os indivíduos usavam algum dispositivo de proteção e foram observados efeitos genotóxicos por Waksvik et al. [30] e no presente estudo. Nos outros cinco não há informação sobre o uso de proteção, e em três desses foram observados efeitos mutagênicos [35, 42, 44].

Os hábitos de trabalho e as técnicas de manipulação dos antineoplásicos, além dos tipos de dispositivos de proteção manipulados, podem contribuir significativamente para a absorção diferencial desses

agentes pelos indivíduos. Por isso, 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 na literatura. O programa de treinamento dos indivíduos que vão manusear os antineoplásicos deve ser feito com base nos conhecimentos atualizados na literatura sobre os efeitos que esses agentes podem causar, nos esclarecimentos relativos ao uso apropriado de dispositivos e equipamentos de proteção e nos detalhes técnicos para o manuseio dos compostos [48].

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. Para eliminar ou pelo menos minimizar, de forma significativa, a exposição aos antineoplásicos, devem-se tomar alguns cuidados. Sugere-se que o trabalho seja desenvolvido em áreas ventiladas, com o uso de máscaras plásticas, óculos especiais, luvas cirúrgicas de látex e roupas apropriadas para a proteção da pele, como o avental de laboratório de mangas longas [49-54].

Os cuidados pessoais devem ser igualmente valorizados: as mãos devem ser lavadas com água e sabão repetidas vezes após o manuseio dos antineoplásicos, o mesmo devendo ocorrer se esses agentes forem derramados em qualquer outra região do corpo. Toda a área física onde são preparados e administrados os antineoplásicos deve ser bem lavada com detergente e água, e esterilizada com álcool isopropil 70% [55-58]. 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 trissódico e ácido sulfúrico [59-62]. Nas salas em que 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 aerossóis ambientais [49, 61].

Além disso, para que o profissional tenha melhor proteção, muitos autores recomendam que a manipulação seja feita em câmaras de fluxo laminar vertical e não nas de fluxo laminar horizontal. 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 é eliminado após passar por um filtro adicional, permitindo maior segurança para o operador [48, 52, 63, 64].

Os estudantes, residentes e médicos também devem ser informados sobre os procedimentos utili-

zados para o preparo, administração e remoção dos resíduos dos antineoplásicos. O conhecimento e a competência de todo o pessoal envolvido com os antineoplásicos devem ser periodicamente avaliados e documentados. Além disso, como os *excreta* de pacientes sob tratamento contêm altas concentrações de antineoplásicos ou seus metabólitos [65-67], 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 [68].

Nesta investigação não foi possível associar a frequência de TCI e de aberrações cromossômicas com os tipos de dispositivos de proteção nem detectar correlação entre tais frequências e o tempo de exposição aos antineoplásicos, possivelmente devido à multiplicidade de variáveis atuantes em conjunto, o que dificultou a interpretação do papel de fatores isolados. Por outro lado, há que se destacar que na coleta dos dados alguns aplicadores foram surpreendidos durante o trabalho sem os dispositivos de proteção que referiram usar na entrevista inicial, o que evidencia que os cuidados referidos como rotina eram, no máximo, eventuais. Além disso, os dispositivos de proteção, quando usados, não eram do tipo mais adequado, não havia sala apropriada para o preparo e a aplicação dos quimioterápicos e os aplicadores não tinham recebido um treinamento específico para tal atividade, tendo sido apenas alertados da necessidade de precauções.

A maior frequência de aberrações cromossômicas e de TCI nos profissionais que manuseavam maior variedade de agentes alquilantes, degradantes e intercalantes do DNA pode ser atribuída ao mais eficaz potencial genotóxico desses agentes. A associação entre o grau de escolaridade superior e a menor frequência de células com anomalias cromossômicas provavelmente reflete o fato de que o indivíduo com melhor formação profissional entende melhor os riscos aos quais está submetido e os reais perigos aos quais expõe sua própria saúde, seguindo cuidadosamente as instruções recebidas.

Verificou-se ampla variabilidade na frequência de anomalias dentro da amostra de aplicadores de antineoplásicos. Alguns dos fatores responsáveis por essa variabilidade poderiam ser diferenças individuais na biotransformação, armazenamento e excreção desses agentes químicos, assim como no sistema de reparo das lesões do DNA por eles induzidas. No entanto, a avaliação desses fatores não pôde ser feita na presente investigação, assim como também não foi feita nos demais estudos da literatura.

Os resultados ora obtidos, portanto, em conjunto com o conhecimento já existente, permitem que se

considere a amostra de profissionais aplicadores de antineoplásicos analisada como um grupo de risco elevado para a ocorrência de mutações cromossômicas e lesões no DNA. Essa conclusão indica a necessidade de que sejam sempre observadas as normas de segurança previstas para o manuseio desses agentes e a conveniência de que esses profissionais sejam submetidos a uma monitorização periódica.

Summary

Nurses, practical nurses and nurse's aides handling antineoplastic in hospital units exhibited increased frequencies of chromosome anomalies and sister-chromatid exchanges (SCE) in chromosomes of peripheric lymphocytes. No correlation was found between time of exposure or protective measures and the frequency of aberrant metaphases or SCE/cell in individual cases, probably due to multiplicity of variables involved. However, decreased frequencies of chromosomal aberrations were found in the professional nurses comparing to the practical nurses and the nurse's aides. Also, decreased frequencies of chromosomal aberrations and SCE were found in exposed individuals handling the most toxics antineoplastics in a low rate. These data indicate that the occupational exposure to cytostatic agents may cause damage to the DNA. Therefore, protective measures and care in handling antineoplastic agents must be further emphasized, and periodic monitoring of nurses exposed to antineoplastic agents should be reinforced.

Key words: *antineoplastic agents; chemotherapy; occupational hazard; chromosome anomalies; sister chromatid exchanges*

Agradecimentos

Os autores agradecem à Diretoria Clínica e à Chefia de Enfermagem dos hospitais nos quais as profissionais foram selecionadas e às pessoas que doaram sangue para este estudo, ao Sr. Josué Rodrigues dos Santos pelo auxílio técnico-laboratorial, aos Profs. Drs. Eloíza Helena Tajara e Celso Abbade Mourão pela leitura crítica do manuscrito e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Referências bibliográficas

1. LEVANTINE A, ALMEYDA J. Cutaneous reactions to cytostatic agents. *Br J Dermatol* 1974; 90: 239-242.
2. STEPHENS LC, WANG YM, SCHULTHEISS TE, JARDINE JH. Enhanced cardiotoxicity in rabbits treated with verapamil and adriamycin. *Oncology* 1987; 44: 302-306.
3. MULDER POM, SLEIJFER DT, de VRIES EGE, UGES DRA, MULDER NH. Renal dysfunction following high-dose carboplatin treatment. *J Cancer Res Clin Oncol* 1988; 114: 212-214.
4. RUCCIONE K, WEINBERG K. Late effects in multiple body systems. *Semin Oncol Nurs* 1989; 5(1): 4-13.
5. SZNOL M, OHNUMA T, HOLLAND JF. Hepatic toxicity of drugs used for hematologic neoplasia. *Sem Liv Dis* 1987; 7(3): 237-256.
6. NEWMAN CE, ELLIS DJ. Pancreatitis during combination chemotherapy. *Clin Oncol* 1979; 5: 83-84.
7. URBA S, FORASTIERE AA. Retrobulbar neuritis in a patient treated with intraarterial cisplatin for head and neck cancer. *Cancer* 1988; 62: 2094-2097.
8. BYRNE J, MULUIHILL JJ, MYERRS MH, CONNELLY RR, NAUGHTON MD, KRAUSS MR, STEINHORN SC, HASSINGER DD, AUSTIN DF, BRAGG K, HOLMES GF, HOLMES FF, LATOURETTE HB, WEYER PJ, MEIGS JW, TETA MJ, COOK JW, STRONG LC. Effects of treatment on fertility in long-term survivors of childhood or adolescent cancer. *New England J Med* 1987; 317(21): 1315-1321.
9. SCHELEUNING M, CLEMM C. Chromosomal aberrations in a newborn whose mother received cytotoxic treatment during pregnancy. *New England J Med* 1987; 317(26): 6666-6667.
10. BERGER MR, 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* 1988; 45: 127-133.
11. ZACCARIA A, ALIMENA G, BACCARANI M, BILLSTROM R, CARBONELL F, CASTOLDI GL, FUSCALDO HECHT F, HOSSFELD DK, MITELMAN F, ROSTI G, SANDBERG AA, TASSINARI A, TESTONI N, TARA S. Cytogenetic analyses in 89 patients with secondary hematologic disorders - Results of a cooperative study. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 26: 65-74.
12. SIEBER SM, ADAMSON RH. Toxicity of antineoplastic agents in man: chromosomal aberrations, antifertility effects, congenital malformations, and carcinogenic potential. *Cancer Res* 1975; 22: 57-155.
13. MONDELLO S, GIORGI R, NUZZO F. Chromosomal effects of methotrexate on cultured human lymphocytes. *Mutat Res* 1984; 139: 67-70.
14. SINGH B, GUPTA RS. 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* 1988; 577-584.
15. ZHANG S, HUANG JH, CHEN PL, LI CH. Sister chromatid exchanges and cell cycle patterns of normal human bone marrow cells after *in vitro* exposure to cytostatic drugs. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 31: 157-163.
16. ABRAHAM SK, FRANZ J. Induction of sister-chromatid exchanges by chemotherapeutic drugs in spermatogonia of mice: effects of procarbazine, adriamycin, cyclofosphamide and mitomycin. *C Mutat Res* 1983; 108: 373-381.
17. LAMBERT B, RINGBORG U, HARPER E, LINDBLAD A. Sister-chromatid exchanges in lymphocyte cultures of patients receiving chemotherapy for malignant disorders. *Cancer Treat Rep* 1978; 62(10): 1413-1419.
18. GEBHART E. Chromosomal aberrations in lymphocytes of patients under chemotherapy. In: Obe G ed. *Mutations in Man*. Berlin

- Springer-Verlag 1984: 198-223.
19. MURTY VVVS, MITRA AB, SHARMA A, DAS BC, LUTHRA UK. Mitomycin C induced chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges (SCEs) in lymphocytes of patients with precancerous and cancerous lesions of the uterine cervix. *Neoplasma* 1987; 34(1): 101-105.
 20. LADIK CF, STOEHR GP, MAURER MA. Precautionary measures in the preparation of antineoplastic. *Am J Hosp Pharm* 1980; 37: 1184-1186.
 21. REYNOLDS RD, LAWRENCE IR. Adverse reactions to AMSA in medical personnel. *Cancer Treat Rep* 1982; 66: 1885.
 22. SOTANIEME EA, SUTINEN S, ARRANTO AJ. Liver damage in nurses handling cytostatic agents. *Acta Med Scand* 1983; 214: 181-189.
 23. McDIARMID H, EGAN T. Acute occupational exposure to antineoplastic agents. *J Occup Med* 1988; 30(12): 984-987.
 24. HIRST M, TSE S, MILLS DG, LEVINE L, WHITE DF. Caution on handling antineoplastic drugs. *New England J Med* 1983; 309: 188-189.
 25. JAGUN O, RYAN M, WALDRON HA. Urinary tioether excretion in nurses handling citotoxic drugs. *Lancet* 1982; 443-444.
 26. KORENBERG JR, FREEDLENDER EF. Giemsa Technique for the detection of sister chromatid exchanges. *Chromosoma* 1974; 48: 355-360.
 27. ISCN (1978). An International system for human cytogenetic nomenclature (1978). *Cytogenet Cell Genet* 1978; 21: 309-404.
 28. STAINO N, DGALLELLI JF, ADAMSON RH, THORGEIRSSON SS. Lack of mutagenic activity in urine from hospital pharmacists admixing antitumour drugs. *Lancet* 1981; 1(8220): 615-616.
 29. GIBSON JF, GOMPERTZ D, HEDWORTH-WHITTY RB. Mutagenicity of urine from nurses handling cytotoxic drugs. *Lancet* 1984; (6923): 100-101.
 30. BARALE R, SOZZI G, TONIOLO P, BORGHI O, REALI D, LOPRIENO N, PORTA GD. Sister-chromatid exchanges in lymphocytes and mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Mutat Res* 1985; 157: 235-240.
 31. POYEN D, De MEO MP, BOTTA A, GOUVERNET J, DUMÉNIL G. Handling of cytostatic drugs and urine mutagenesis. *Int Arch Occup Environ Health* 1988; 61: 183-188.
 32. FALCK K, GROHN P, SORSA M, VAINIO H, HEINONER E, HOLSTIL. Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet* 1979; 1(8128): 1250-1251.
 33. BOS RP, LEENAARS AO, THEUWS JLG, HENDERSON PTH. Mutagenicity of urine from nurses handling cytostatic drugs, influence of smoking. *Int Arch Occup Environ Health* 1982; 50: 359-369.
 34. BENHAMOU S, CALLAIS F, SANCHO-GARNIER H, MIN S, COURTOIS YA, FESTY B. Mutagenicity in urine from nurses handling cytostatic agents. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22(12): 1489-1493.
 35. POHLOVÁ H, CERNÁ M, ROSSNER P. Chromosomal aberrations, SCE and urine mutagenicity in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. *Mutat Res* 1986; 174: 213-217.
 36. STUCKER I, HIRSCHA, 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* 1986; 57: 195-205.
 37. COURTOIS YA, 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 Franc* 1987; 45(4): 289-300.
 38. CAUDELL MJ, VREDEVOE DL, DIETRICH MF, CAUDELL TP, HOBAN MJ, BLOK JB. Quantification of urinary mutagens in nurses during potential antineoplastic agent exposure. A pilot study with concurrent environmental and dietary control. *Cancer Nurs* 1988; 11(1): 41-50.
 39. ANDERSON RW, PUCKETT WH, DANA WJ, NGUYEN TU, THEISS JC, MATNEY TS. Risk of handling injectable antineoplastic agents. *Am J Hosp Pharm* 1982; 39: 1881-1887.
 40. NGUYEN TV, THEISS JC, MATNEY TS. Exposure of pharmacy personnel to mutagenic antineoplastic drugs. *Cancer Res* 1982; 42: 4792-4796.
 41. LATT SA, SCHRECK RR, LOVEDAY KS, SHULER CF. *In vitro* and *in vivo* analysis of sister chromatid exchange. *Pharm Reviews* 1979; 30: 501-535.
 42. NORPPA H, SORSA M, VAINIO H, GROHN P, HEINONEN E, HOLSTI L, NORDEMAN E. Increased sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *Scand J Work Environ Health* 1980; 6: 299-301.
 43. WAKSVIK H, KLEPP O, BROGGER A. Chromosome analyses of nurses handling cytostatic agents. *Cancer Treat Rep* 1981; 65(7-8): 607-610.
 44. NIKULA E, KIVINIITT K, LEISTI J, TASKINEN PJ. Chromosome aberrations in lymphocytes of nurses handling cytostatic agents. *Scand J Work Environ Health* 1984; 10: 71-74.
 45. 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* 1983; 121: 253-259.
 46. JORDAN DK, PATIL SR, JOCHIMSEN PR, LACHENBRUCH PA, CORDER MP. Sister chromatid exchange analysis in nurses handling antinoplastic drugs. *Cancer Invest* 1986; 4(2): 101-107.
 47. 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* 1988; 41: 350-353.
 48. HITCHINGS CR, JENNINGS K, KNASS A, SPEECHLEY V, WHITE A. Guidelines for the handling of cytotoxic drugs. *Pharm J* 1983; 230-231.
 49. ZIMMERMAN PF, LARSEN RK, BARKLEY EW. Recommendations for the safe handling of injectable antineoplastic drug products. *Am J Hosp Pharm* 1981; 38: 1693-1695.
 50. THOMPSON DF. PVC gloves for handling antineoplastic. *Am J Hosp Pharm* 1982; 39: 227.
 51. NEAL AW, WADDEN RA, CHIOU WL. Exposure of hospital workers to airborne antineoplastic agents. *Am J Hosp Pharm* 1983; 40: 597-601.
 52. AVIS KE, LEVCHUCK JW. Special considerations in the use of vertical laminar flow workbenches. *Am J Hosp Pharm* 1984; 41: 81-87.
 53. LAIDLAW JL, CONNOR TH, THEISS JC, ANDERSON RW,

- MATNEY TS. Permeability of latex and polyvinyl chloride gloves to 20 antineoplastic drugs. *Am J Hosp Pharm* 1984; 41: 2618-2626.
54. YODAIKEN RE, BENNETT D. OSHA work-practice guidelines for personnel dealing with cytotoxic (antineoplastic) drugs. *Am J Hosp Pharm* 1986; 43: 1193-1204.
55. HOFFMAN DM. The handling of antineoplastic drugs in a major cancer center. *Hosp Pharm* 1980; 15: 302-304.
56. WILSON JP, SOLIMANDO DA. Aseptic technique as a safety precaution of antineoplastic agents. *Hosp Pharm* 1981; 16: 575-581.
57. EVANS RM. Guidelines for handling parenteral antineoplastic. *JAMA* 1985; 253(11): 1590-1592.
58. BERG S. Precautions for handling antineoplastic agents in the home. *Am J Hosp Pharm* 1987; 44: 1024.
59. BACOVSKY R. Disposal of hazardous pharmaceuticals. *Canadian J Hosp Pharm* 1981; XXXIV(1): 12-13.
60. KNOWLES RS, VIRDEN JE. Handling of injectable antineoplastic agents. *Br Med J* 1980; 281(6240): 589-591.
61. STOLAR MH, POWER LA, VIELE CS. Recommendations for handling cytotoxic drugs in hospitals. *Am J Hosp Pharm* 1983; 40: 1163-1171.
62. JOHNSON EG, JANOSIK JE. Manufacture's recommendations for handling spilled antineoplastic agents. *Am J Hosp Pharm* 1989; 46: 318-319.
63. ZELLMER WA. Reducing occupational exposure to potential carcinogens in hospitals. *Am J Hosp Pharm* 1981; 38: 1679.
64. HOYRH, STUMP LM. Effect of an air-venting filter device on aerosol production from vials. *Am J Hosp Pharm* 1984; 41: 324-326.
65. 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* 1984; 1(8368): 74-77.
66. HARRIS J, DODDS LJ. Handling waste from patients receiving cytotoxic drugs. *Pharm J* 1985; 289-291.
67. COLLS BM. Safety of handling cytotoxic agents: a cause for concern by pharmaceutical companies? *Br Med J* 1985; 291: 1318-1319.
68. RUBADUE CL. Potential health hazards with antineoplastic drugs. *Occup Health Nurs* 1985; 33: 363-366.