

O RISCO GENÉTICO DAS TERAPIAS DO CÂNCER

The Genetic Risk of Cancer Therapy

Eliana Maria Minicucci¹, Daisy Maria Favero Salvadori²,
Lúcia Regina Ribeiro³, Maria Aparecida Conti Maia⁴, João
Lauro Viana de Camargo⁵

Resumo

O presente artigo descreve as conseqüências de algumas terapias utilizadas para o câncer sobre o material genético de pacientes com neoplasias. O objetivo é ressaltar a importância da avaliação da relação risco/benefício dos diferentes tratamentos utilizados para o câncer, e da continuidade de pesquisas para o desenvolvimento de novas formas de terapia e de novas drogas antineoplásicas. Faremos breve exposição sobre o processo de carcinogênese de múltiplas etapas, destacando o conceito geral de que o câncer é uma doença genética. São apresentados os efeitos mutagênicos das radiações ionizantes e de algumas classes de quimioterápicos sobre o material genético. Além dos efeitos deletérios desses agentes para o paciente, são também relatados efeitos nocivos para os indivíduos que manipulam ou que são responsáveis pela condução dos tratamentos. Abordaremos de modo geral, os danos genéticos induzidos por agentes antineoplásicos mutagênicos tanto para o paciente como para os indivíduos que os manipulam, predispondo-os ao desenvolvimento de um segundo tumor ou de um tumor primário, respectivamente.

Palavras-chave: risco genético; radioterapia; braquiterapia; quimioterapia

Abstract

The present paper indicates the effects of the most common practices for cancer treatment on the genetic sample of the patient. The main objective of this report is to stress the importance of the risk/benefit assessment of the different therapeutic protocols adopted for cancer and the need for the development of new therapeutic practices and chemotherapy agents. After stressing the fact that cancer is a genetic disease that develops through multiple steps, the effects of ionizing radiation and of some therapeutic chemicals on the DNA are presented. Besides, the deleterious effects on the DNA of the technical personnel who provides treatment are also indicated. Therefore, this paper discusses in a general way the genetic damage induced by anti-neoplastic agents, which increases the risk for the development of another primary tumor.

Key words: genetic risk; radiotherapy; brachytherapy; chemotherapy

1 – Cirurgiã-dentista, mestranda em Patologia na Faculdade de Medicina – UNESP, Botucatu – SP.

2 – Bióloga e biomédica, doutora em genética pela USP, pesquisadora do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina – UNESP, Botucatu, SP.

3 – Bióloga, doutora em genética pela USP, pesquisadora do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina – UNESP, Botucatu, SP.

4 – Médica Radioterapeuta – Hospital A.C. Camargo – São Paulo

5 – Médico Patologista, professor titular do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina – UNESP, Botucatu, SP.

Endereço para correspondência: Faculdade de Medicina – UNESP, Depto. de Patologia, Rubião Júnior, Botucatu – SP; 18618-000. dfavero@fmb.unesp.br

Monografia para qualificação de Mestrado, apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia – Faculdade de Medicina – UNESP.

I - Introdução

A carcinogênese é um processo de múltiplas etapas que pode ser iniciado pela exposição de uma célula normal a um agente lesivo para o DNA denominado genotóxico. O estabelecimento de uma seqüência temporal para a gênese do câncer, caracteriza cada uma dessas etapas através de eventos biológicos importantes (Figura 1).

A etapa da iniciação, à qual este trabalho dará ênfase, é caracterizada por lesão irreversível no DNA (mutação), induzida por agentes genotóxicos. Embora a literatura seja rica em evidências que apoiam o conceito geral de que o câncer é uma doença genética, e que tanto alterações cromossômicas numéricas quanto estruturais tenham sido observadas em células cancerosas *in vitro* e *in vivo*⁽¹⁾, deve-se, também, dar especial atenção aos eventos genéticos que ocorrem nas células "saudáveis" e que podem levar à iniciação do processo carcinogênico.

Venkataraman et al.⁽²⁾, por exemplo, observaram aumento na freqüência de aberrações cromossômicas e micronúcleos em linfócitos de indivíduos portadores de tumores sólidos. Resultados similares já haviam sido obtidos por Antonie et al.⁽³⁾, que observaram aumento na freqüência de cromossomos dicêntricos em linfócitos de sangue periférico de mulheres com câncer cervical.

A forte correlação entre mutação somática e câncer fez com que inúmeros estudos fossem conduzidos no intuito de identificar agentes capazes de induzir mutação e também de conhecer os mecanismos pelos quais esses agentes exercem seu potencial cancerígeno.

Testes que detectam alterações genéticas indicam a exposição do indivíduo a agentes mutagênicos, que são fatores de risco para o desenvolvimento neoplásico. Dentre esses testes, os mais utilizados são os que detectam aberrações cromossômicas numéricas e estruturais, troca entre cromátides irmãs (TCI), micronúcleo (fragmento ou cromossomo inteiro que não é inserido no núcleo principal durante a mitose) e mutações gênicas (*hprt*).

Embora o controle do desenvolvimento do câncer dependa de um conjunto de medidas em diversas áreas, é a terapêutica especializada, com o emprego de tecnologia e medicamentos de alto custo, o que é mais utilizado. No entanto, sabe-se, hoje, que os tratamentos antineoplásicos podem ser, também, deletérios para o organismo. Além de causar danos em células somáticas, podem causar mutações em células germinativas, tornando-se fatores de risco para os descendentes⁽⁴⁾.

Novos tumores podem se desenvolver logo após, ou algum tempo depois do tratamento do tumor primário, podendo refletir um dano genético ou imunológico relacionado ao tratamento ou à exposição a carcinógenos ambientais⁽⁵⁾. Travis e colaboradores verificaram aumento de 4,5 vezes no risco de desenvolvimento de câncer de bexiga em pacientes com linfoma não-Hodgkin tratados com ciclofosfamida, sendo este risco dependente da dose acumulada⁽⁶⁾. Outros autores verificaram aumento na freqüência de mutações no gene *hprt* em linfócitos de sangue periférico de pacientes com leucemia linfoblástica aguda até 16 anos após o término da quimioterapia, sugerindo que os danos causados pelos antineoplásicos podem persistir por longo período⁽⁷⁾.

Abordamos a seguir algumas conseqüências das diferentes terapias sobre o material genético de indivíduos com neoplasias.

II - Radioterapia

A radioterapia (Rt), modalidade terapêutica que utiliza as radiações ionizantes no tratamento dos pacientes com neoplasias malignas (e ocasionalmente benignas) é, hoje empregada em aproximadamente 50% dos pacientes com diagnóstico precoce. Apesar da finalidade da Rt ser liberar uma dose de radiação que erradique o tumor, com mínimo dano para os tecidos vizinhos, esta pode, também, ser um indutor de câncer^(8, 9, 10).

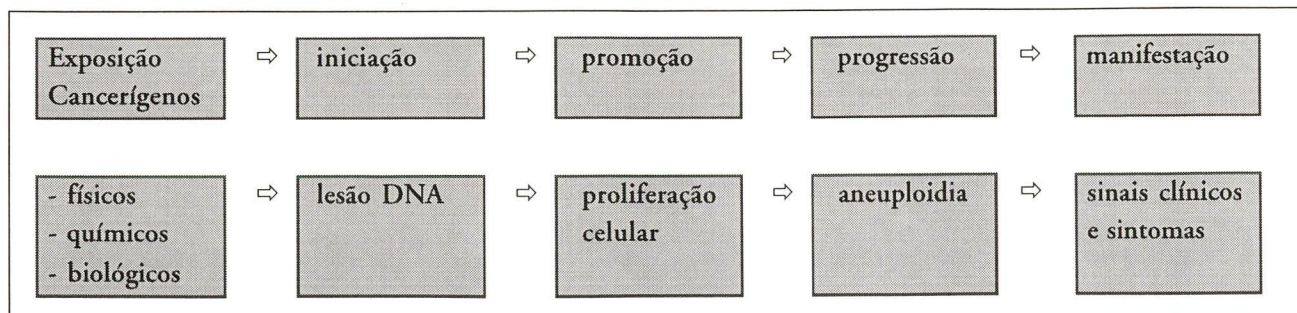


Figura 1. Etapas da carcinogênese química e os principais eventos associados a cada uma delas.

Os danos provocados pelas radiações ionizantes são causados, ou por uma interação direta com moléculas alvo ou, indiretamente, pela formação de elementos químicos ativos e altamente reativos (radicais livres) que persistem por fração de segundos⁽¹¹⁾, mas que possuem alta afinidade pela molécula de DNA⁽¹¹⁾. Acredita-se que o dano provocado no DNA seja o principal mecanismo pelo qual a radiação mata as células.

As alterações genéticas causadas pela radiação dependem do tipo de energia, da dose, da velocidade de administração, da capacidade de reparo do DNA, da fase do ciclo celular, entre outros fatores. Embora as radiações ionizantes induzam mais freqüentemente a quebras de fita simples de DNA, as quebras de fita dupla são as principais responsáveis pela indução de aberrações cromossômicas⁽¹²⁾.

Além das alterações cromossômicas estruturais, que podem ser facilmente detectadas por microscopia óptica de luz, as mutações gênicas induzidas pela radiação podem também levar à instabilidade genômica e ao câncer. Alterações, por exemplo, no gene p53 - gene supressor de tumor que atua impedindo a proliferação de células geneticamente alteradas através da indução de apoptose - podem fazer com que este perca sua atividade, permitindo que as células alteradas continuem a se dividir, o que pode resultar em processo neoplásico⁽¹³⁾.

Kleineinan e colaboradores observaram que pacientes submetidas à Rt para câncer cervical desenvolveram uma segunda neoplasia no reto, vagina, vulva, ovário e bexiga, anos após o tratamento.⁽¹⁴⁾ O risco de desenvolver um tumor sólido, especialmente câncer de mama, foi alto em mulheres com doença de Hodgkin tratadas na infância com radiação⁽¹⁵⁾. Trabalhos publicados relataram o aparecimento de câncer de tireóide doze a treze anos após a Rt profilática de sistema nervoso central em crianças portadoras de leucemia linfóide aguda⁽¹⁶⁾. Além disso, alterações no desenvolvimento ósseo, complicações na maturação do esqueleto, incluindo osteoradionecrose, fraturas patológicas e neoplasias radioinduzidas, como osteocondromas e sarcomas, também foram observados como efeitos secundários da radioterapia⁽¹⁷⁾.

A melhor evidência dos efeitos das radiações em seres humanos são os estudos epidemiológicos dos sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki. Esses estudos

mostraram uma relação linear entre a indução do câncer e a exposição a uma dose extremamente alta de radiação⁽¹⁸⁾.

Após o acidente radioativo de Goiânia, no qual centenas de pessoas foram expostas ao céσιο 137 proveniente de um aparelho de raio X, observaram-se aumentos nas freqüências de micronúcleos, de aberrações cromossômicas (cromossomos dicêntricos e em anéis) e aumento na freqüência de mutação no gene *hprt* em linfócitos de sangue periférico, que foram relacionados à dose de radiação^(19,20,21,22,23).

III - Braquiterapia

A braquiterapia, que consiste na colocação de fontes radioativas em contato com o tecido alvo do tratamento, foi primeiramente utilizada em 1901, três anos após a descoberta do rádio²²⁶ por Marie e Pierre Curie⁽²⁴⁾.

Inicialmente, os tratamentos eram feitos com aplicações superficiais de rádio. Em 1929, Cade descreveu o tratamento do câncer de próstata, em que agulhas de rádio eram introduzidas no tumor, onde permaneciam por 3 semanas⁽²⁵⁾. Gradualmente, o rádio foi sendo substituído por outras fontes e, atualmente, têm sido utilizados na braquiterapia o Cs¹³⁷, Ir¹⁹², I¹²⁵, Au¹⁹⁸ e Sr⁹⁰, Pd¹⁰³ e Y⁹⁰. No início, as fontes eram inseridas manualmente trazendo, com isso, riscos não somente aos pacientes mas também aos médicos e técnicos. Atualmente são utilizados aparelhos nos quais o cálculo e a aplicação das doses de radiação são feitos por computador, aumentando, assim, tanto a qualidade do tratamento como a segurança no manuseio. Entretanto, como acontece para a radioterapia, os isótopos utilizados na braquiterapia também apresentam potencial mutagênico/cancerígeno. Após o acidente radioativo de Chernobyl, em 1986, no qual indivíduos foram expostos ao I¹³¹, foram observados aumentos na incidência do câncer de tireóide em crianças, na freqüência de micronúcleos em linfócitos, além de alterações na espermatogênese^(26, 27, 28, 29, 30). Em 1997 foi descrita a indução de efeitos clastogênicos e aneugênicos em linfócitos de mulheres com câncer de tireóide, submetidas ao tratamento com I¹³¹. Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos genotóxicos dos radioisótopos em indivíduos que utilizam a braquiterapia⁽³¹⁾.

IV - Quimioterapia (Qt)

Há cinco décadas agentes químicos vêm sendo utilizados para o tratamento do câncer e, ainda hoje, constituem-se em ferramentas importantes no combate dessa doença. A quimioterapia (Qt) é a forma de tratamento antineoplásico sistêmico que tem como finalidade destruir as células tumorais com o mínimo de toxicidade para as células normais. A atividade tóxica dos quimioterápicos podem ocorrer por interferência na duplicação e síntese do DNA, na transcrição do RNA e nos mecanismos de transporte citoplasmático. Eles são tóxicos tanto para o tumor como para o hospedeiro, o que é esperado uma vez que os tumores originam-se de tecidos normais, havendo poucas diferenças bioquímicas entre os dois tipos de células⁽³²⁾.

Quando se estuda a exposição de seres humanos a agentes químicos, devem ser avaliados parâmetros genéticos, como a indução de danos no DNA, o acúmulo de danos após exposições repetidas que permite o entendimento sobre efeito único versus exposições repetidas, e a persistência dos danos depois de terminada a exposição, para a compreensão da cinética de reparação, que inclui o reparo do DNA e regeneração dos tecidos.

Avaliou-se o acúmulo e a persistência de alterações no DNA de linfócitos de paciente com câncer de mama antes da quimioterapia, várias vezes durante o tratamento e depois deste com ciclofosfamida, doxorubicina e fluorouracil. O resultado mostrou que a frequência de trocas entre cromátides irmãs (TCI) induzidas pelos antineoplásicos diminuiu rapidamente poucas semanas após o tratamento. No entanto, o dano residual permaneceu por nove meses após a quimioterapia⁽³³⁾. Também foi descrito o aumento na frequência de micronúcleos em linfócitos de sangue periférico de indivíduos com carcinoma testicular nove anos após o término da quimioterapia, e sugeriram que a persistência do dano cromossômico, possivelmente relacionado a quimioterapia poderia ser o evento iniciador do desenvolvimento de uma segunda neoplasia⁽³⁴⁾. O uso de esquemas quimioterápicos está baseado na classificação dos agentes antineoplásicos, dependendo de sua estrutura química ou modo de ação. A classificação de Ferguson e Denny divide estes agentes antineoplásicos de acordo com seu mecanismo de ação ou alvos celulares em alquilantes, inibidores das topoisomerases, produtores de radicais livres, inibidores da mitose e antimetabólitos⁽³⁵⁾.

Os alquilantes são, hoje, os mais amplamente utilizados. Por apresentarem alta reatividade química, possuem a capacidade de se ligar a macromoléculas como proteínas e DNA, podendo causar tanto mutações como interrupção da divisão celular⁽³⁵⁾. O uso destas drogas pode causar leucemia mielóide aguda, precedida por mielodisplasia, com deleção completa ou parcial nos cromossomos 5 ou 7. O risco está relacionado à dose acumulada, sendo que as mutações induzidas nos genes p53 e NF1 e o genótipo nulo do GSTT1 poderiam ser as responsáveis pelo aumento deste⁽³⁶⁾.

Já os agentes inibidores das topoisomerases são compostos que atuam sobre as enzimas responsáveis por espiralizar ou desespiralizar a molécula de DNA durante os processos de replicação e empacotamento. Os compostos inibidores das topoisomerases agem pela formação de complexo ternário enzima-DNA-droga, que resulta em quebra da molécula de DNA⁽³⁷⁾.

Quando os inibidores da topoisomerase II foram desenvolvidos, havia esperança de que esses agentes não fossem cancerígenos *per se*⁽³⁸⁾. No entanto, sabe-se, hoje, que muitos deles causam câncer, principalmente leucemias^(36,39,40). Estudos citogenéticos em pacientes com tumores secundários, induzidos por inibidores da topoisomerase II, têm mostrado que esses tumores estão associados a alterações genéticas distintas^(41,42). Aparentemente, as substâncias inibidoras da topoisomerase II não causam, *per se*, mutações de ponto (lesões que afetam um ou poucos nucleotídeos), mas sim alterações cromossômicas.

Os agentes geradores de radicais livres são compostos citotóxicos porque transferem radicais para o DNA, resultando na quebra da cadeia. Existem evidências relacionando uma variedade de mutações em bactérias e em células de mamíferos com a formação de radicais livres, sendo esses eventos mutacionais mais comumente ligados a alterações cromossômicas do que à mutação pontual^(33, 43, 44).

Os agentes inibidores da mitose são agentes anti-proliferativos que atuam bloqueando a formação do fuso mitótico. Esses compostos agem ligando-se às tubulinas, inibindo sua polimerização para formar os microtúbulos do fuso mitótico e, possivelmente, dos centríolos^(45, 46). O fato dos compostos inibidores da mitose geralmente produzirem respostas negativas em testes de mutação gênica e, por outro lado, induzirem quebras cromossômicas *in vitro* e *in vivo*, e ainda por

provocar em aneuploidias, sugere que esses compostos não causam mutações pontuais, mas sim alterações cromossômicas^(33, 47, 48, 49).

Os agentes antimetabólitos, estruturalmente semelhantes a precursores endógenos dos ácidos nucleicos, podem ser metabolizados pelas mesmas vias utilizadas pelas purinas e pirimidinas endógenas. A atividade citotóxica desses compostos ocorre quando seus metabólitos são incorporados ao ácido nucleico em locais onde naturalmente ocorreria nucleosídeos, ou quando inibem enzimas importantes para a síntese deste⁽⁵⁰⁾. Embora alguns agentes antimetabólitos tenham a capacidade de causar mutação de pontual, provocam, predominantemente, alterações cromossômicas^(51, 52).

Alterações na expressão de genes que podem afetar a progressão no ciclo celular (aumento da expressão dos genes da ciclina D1 ou mutação em genes reguladores como o p53), já foram detectadas em todos os tipos de cânceres humanos. Atualmente, existem várias evidências que tais alterações podem modular a resposta celular com quimioterápicos. Em muitos casos, as alterações genéticas podem induzir resistência ao tratamento, como é o caso das mutações no gene p53. Contudo, a perda da regulação de genes envolvidos com o ciclo celular pode, também, alterar diretamente a expressão dos alvos dos agentes quimioterápicos, aumentando a sensibilidade ao tratamento. Assim, torna-se crucial o entendimento das interações entre o mecanismo de ação dos compostos e as alterações genéticas do câncer, a fim de explorar as áreas nas quais as alterações encontradas no tumor possam constituir potencial vulnerabilidade ao tratamento⁽⁵³⁾.

Desta forma, o desenvolvimento de novas drogas requer a investigação de sua eficácia e segurança. Para isso, as avaliações pré-clínicas objetivam, principalmente: (1) identificar a dose inicial segura e o subsequente escalonamento da dose para seres humanos ou estabelecer a dose mínima tolerada; (2) identificar os órgãos alvo potenciais da toxicidade e reversibilidade da toxicidade; (3) identificar o potencial para a indução de dano no material genético (genotoxicidade); e (4) identificar parâmetros para acompanhamento clínico⁽⁵⁴⁾.

Além dos efeitos deletérios ao paciente, os agentes antineoplásicos podem, também, produzir efeitos nocivos na equipe responsável por sua manipulação. A

inalação, absorção cutânea e ingestão acidental são as principais vias de contaminação^(55,56). Alguns autores relatam aumentos espontâneos de abortos e de fetos malformados, que parece estar associado à exposição a esses agentes^(57, 58). Além disso, vários estudos utilizando testes *in vitro*, identificaram mutágenos na urina de enfermeiras que manipulavam esses agentes. Aumentos de danos no DNA, na frequência de aberrações cromossômicas, na frequência de micronúcleo e de troca entre cromátides irmãs foram, também, observados em indivíduos que manipulavam substâncias quimioterápicas^(54, 55, 60, 61, 62).

Desta forma, pode-se concluir que as alterações genéticas induzidas por agentes antineoplásicos mutagênicos podem afetar os pacientes e indivíduos que os manipulam, predispondo-os ao desenvolvimento tanto de um tumor primário como de uma segunda neoplasia⁽⁶³⁾.

Assim, o risco/benefício das terapias para o câncer e a possibilidade do desenvolvimento de novas formas de tratamento e de novas drogas antineoplásicas devem ser continuamente avaliados.

V - Referências Bibliográficas

1. COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. – Neoplasias. In: Cotran, R.S.; Kumar, V.; Collins, T. eds. Robbins Pathologic Basis of Disease, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 329-402, 1999.
2. VENKATACHALAM, P.; PAUL, S.F.D.; MOHANKUMAR, M.N.; et al– Higher frequency of dicentric and micronuclei in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. *Mutat. Res.*, 425: 1-8, 1999.
3. ANTOINE, G.B.; GERBER, G.B.; LEONARD, A.; RICHARD, F.; WAMBERSIE, A. – Chromosome aberration in patients treated with telecobalt therapy for mammary carcinoma. *Radiat. Res.*, 86: 171-177, 1981.
4. BYRNE, J.- Long-term genetic and reproductive effects of ionizing radiation and chemotherapeutic agents on cancer patients and their offspring. *Teratology.*, 59: 210-215, 1999.
5. KAISER, H.E.; NASIR, A.; GROGER, A.M.; LINK, C.J.Jr. - The etiology of second primary tumor. *In Vivo*, 12:89-93, 1998.

6. TRAVIS, L.B.; CURTIS, R.E.; GLIMELIUS, B.; et al. - Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 87: 524-530, 1995.
7. KOISHI, S.; KUBOTA, M.; SAWADA, M.; et al - Biomarkers in long survivors of pediatric acute lymphoblastic leukemia patients: late effects of cancer therapy *Mutat. Res.*, 422:213-222, 1998.
8. ELKING, M.M. - Repair processes in radiation biology. *Radiat. Res.*, 100: 425-449, 1984.
9. ALVARES, L.C.; FREITAS, J.A.S.; TAVANO, O. - Considerações gerais: fundamentos da radiologia. In: Alvares, L.C.; Tavano, O. *Curso de Radiologia em Odontologia*. São Paulo: Santos, p.1-16, 1987.
10. ENGELS, H; WAMBERSIE, A. - Relative biological effectiveness of neutrons for cancer induction and other late effects: a review of biological data. *Recent Results Cancer Res.*, 150: 54-87, 1998.
11. PHIL, A.; ELDJARAN, L. - Pharmacological aspects of ionizing radiation and chemical protection in mammals. *Pharmacol. Res.*, 10:437-4, 1958.
12. NARATAJAN, A.T.; OBE, G.- Molecular mechanisms involved in the production of chromosomal aberrations. I. Utilization of neurospora endonucleases for the study of aberration production in G₂ stages of the cell cycle. *Mutat. Res.*, 52:137-149, 1978.
13. LANE, D. - p53, guardian of the genome. *Nature*, 358: 15-16, 1992.
14. KLEINERMAN, R.A.; BOICE, J.D.; STORM, H.H.; et al - Second primary cancer after treatment for cervical cancer. *Cancer*, 76:442-452, 1995.
15. BHATIA, S.; ROBISON, L.L.; OBERLIN, O.; et al.- Breast cancer and other second neoplasm after childhood Hodgkin's disease. *New Engl. J. Med.*, 334:745-751, 1996.
16. PEREL, Y.; LEVERGER, G.; CARRERE, A. et al - Second thyroid neoplasms after prophylactic cranial irradiation for acute lymphoblastic leukemia. *Am. J. Hematol.*, 59: 91-94, 1998.
17. MITCHELL, M.J.; LOGAN, M.- Radiation-induces changes in bone. *Radiographics*, 18:1125-1136, 1998.
18. POLLYCOVE, M. Nonlinearity of radiation health effects. *Environ. Health Perspect.*, 106: 363-368, 1998.
19. Da CRUZ, A.D.; MCARTHUR, A.G.; SILVA, C.C.; CURADO, M.P.; GLICKMAN, B.W.- Human micronucleus counts are correlated with age, smoking, and cesium-137 dose in Goiania (Brazil) radiological accident. *Mutat. Res.*, 313: 57-68, 1994.
20. RAMALHO, A.; CURADO, M.; NATARAJAN, A.T.- Lifespan of human lymphocytes estimated during a six year cytogenetic follow-up of individuals accidentally exposed in the 1987 radiological accident in Brazil. *Mutat. Res.*, 331:47-54, 1995.
21. RAMALHO, A.T.; COSTA, M.L.; OLIVEIRA, M.S. - Conventional radiation-biological dosimetry using frequencies of unstable chromosome aberrations. *Mutat. Res.*, 404:97-100, 1998.
22. SADDI, V.; CURRY, J.; NOHTURFFT, A.; WOLFGANG, K.; GLICKMAN, B.W.- Increased hprt mutant frequencies in Brazilian children accidentally exposed to ionizing radiation. *Environ. Mol. Mutagen.*, 28:267-275, 1996.
23. SKANDALIS, A.; CRUZ, A.D.; CURRY, J.; NOHTURFFT, A.; CURADO, M.P.; GLICKMAN, B.W. - Molecular analysis of T-lymphocyte HPRT mutations in individuals exposed ionizing radiation in Goiânia, Brazil. *Environ. Mol. Mutagenesis*, 29:107-116, 1997.
24. AISEN, S.; CARVALHO, H.A.; ADDAD, C.M.K. - Aplicações Clínicas. In: Salvajoli, J.V.; Souhami, L.; Faria, S.L. Editores. *Radioterapia em Oncologia*, Parte B, Rio de Janeiro, Medsi, 190-218, 1999.
25. BIRKENHAKE, S.; SAUER, R. - Historical essentials in influencing the development of radiooncology in the past 100 years. *Experientia*, 51: 681-685, 1995.
26. BLEUER, J.P.; AVERKIN, Y.I.; ABELIN, T.- Chernobyl related thyroid cancer: what evidence for role of short lived iodines?. *Environ Health Perspect.*, 105: 1483-1578, 1997.
27. GOLDMAN, M.- The Russian radiation legacy: its integrated impact and lessons. *Environ. Health Perspect.*, 105: 1385-1391, 1997.
28. FENECH, M.; PEREPETSKAYA, G.; MIKHALEVICH, L.A.- More comprehensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations-experiences from the Chernobyl Catastrophe. *Environ. Mol. Mutagen.*, 30:112-118, 1997.

- 29 OGILVY-STUART, A.L.; SHALET, S.M.- Effect of radiation on the human reproductive system. *Environ. Health Perspect.*, 101:109-116, 1993.
30. FISHBEIN, A.; ZABLUDOVSKY, N.; ELTES, F.; VALENTIN, G.; BARTOOV, B.- Ultramorphological sperm characteristics in the risk assessment of health effects after radiation exposure among salvage works in Chernobyl. *Environ. Health. Perspect.*, 105:1445-1449, 1997.
31. RAMIREZ, M.J.; SURRALES, J.; GALOFRE, P.; CREUS, A.; MARCOS, R. - Radioactive iodine induces clastogenic and age-dependent aneugenic effects in lymphocytes of thyroid cancer patients as revealed by interphase FISH. *Mutagenesis*, 12: 449-55, 1997.
32. CLETON, F.J.-Chemotherapy general aspects. In: Peckham, M.; Pinedo, H.M.; Veronesi, U. Oxford Textbook of Oncology, Oxford: Oxford Medical Publications, v.1, 445-468, 1995.
33. TUCKER, J.D.; WYROBEK, A.J.; ASHWORTH, L.K.; et al.- Induction, accumulation, and persistence of sister chromatid exchanges in women with breast cancer receiving cyclophosphamide, adriamycin, and 5-fluorouracil chemotherapy. *Cancer Res.*, 50:4951-4956, 1990.
34. OSANTO, S.; THIJSSSEN, J.C.; WOLDERING, V.M.; van RIJN, J.L.S.; NATARAJAN, A.T.; TATES, A.D.- Increased frequency of chromosomal damage in peripheral blood lymphocytes up to nine years following curative chemotherapy of patients with testicular carcinoma *Environ. Mol. Mutagenesis*, 17:71-78, 1991.
35. FERGUSON, L.R.; DENNY, W.A - Anticancer drugs an underestimated risk or an underutilised resource in mutagenesis?. *Mutat. Res.*, 331:1-26, 1995.
36. WORKMAN, LEWIS, A .D.; CASSIDY, J. Alkylating agents and related drugs. In: Peckham, M.; Pinedo, H.M.; Veronesi, U. Oxford Textbook of Oncology. Oxford: Oxford Medical Publications, 1:495-513,1995.
37. RALPH, R.K.; JUDD, W.; POMMIER, Y.; et al.- DNA topoisomerases. In: Neidle, S.; Waring, M, J. Topics in Molecular and Structural Biology Molecular Aspects of Anticancer Drug-DNA Interactions. 2 ed. London: MacMillan, 1-95, 1994.
38. DE LA INGLESIA, F.A .; FITZGERALD, J.E.; McGUIRE, E.J.; KIM, S.N.; HEIFETZ, C.L.; STONER, G.D.- Bacterial and mamalian cell mutagenesis, sister-chromatid exchange and mouse lung adenoma bioassay with the antineoplastic acridine derivative. *J. Toxicol. Environ. Health*, 14:667-681, 1984.
39. PEDERSEN-BJERGAARD, J.; PHILIP:- Balanced translocations involving chromosome bands 11q23 and 21q22 are highly characteristic of myelodysplasia and leukemia following therapy with cytostatic agents targeting at DNA-topoisomerase-II. *Blood*, 78:1147-48, 1991a.
40. SANDOVAL, C.; PUI, C.H.; BOWMAN, L.C. et al. Secondary acute myeloid leukemia in children previously treated with alkylating agents, intercalating topoisomerase-II inhibitors, and irradiation. *J. Clin. Oncol.*, 11:1039-1045, 1993.
41. PEDERSEN-BJERGAARD, J.; PHILIP: - Two different classes of therapy-related and de-novo acute leukemia? *Cancer Cytogenet.*, 55:119-24, 1991b.
42. SANDOVAL, C.; HEAD, D.H.; MIRRO, J. -The t(9;11)(p21;q23) in pediatric de novo and secondary acute myeloblastic leukemia. *Leukemia*, 6:513-519, 1992.
43. DE FLORA, S.; RAMEL, C. Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. *Mutat. Res.*, 202: 285-306,1988
44. MENEGHINI, R. - Genotoxicity of active oxygen species in mammalian cells. *Mutat. Res.*, 195:215-230, 1988.
45. JORDAN, M.A.; THROWER, D.; WILSON, L. - Effects of vinblastine, phodoohyllotoxin and nocodazole on mitotic spindles. Implications for the role of microtubule dynamics in mitosis. *J Cell Sci*, 102: 401-16, 1992.
46. WENDELL, K.L.; WILSON, L.; JORDAN, M.A. - Mitotic block in HeLa cells by vinblastine ultrastructural changes in kinetochore-microtubule attachment and in centrosomes. *J Cell Sci*, 104: 261-274, 1993.
47. LONG, B.H.; FAIRCHILD, C.R.- Paclitaxel inhibits progression of mitotic cells to g(1) phase by interference with spindle formation without affecting other microtubule functions during anaphase and telophase. *Cancer Res.*, 54:4355-4361, 1994.

48. TINWELL, H.; ASHB, J.- Genetic toxicity and potential carcinogenicity of taxol. *Carcinogenesis*, 15:1499-1501, 1994.
49. NATARAJAN, A.T.; DUIVENVOORDEN, W.C.; MEIJERS, M.; ZWANENBURG, T.S.- Induction of mitotic aneuploidy using Chinese hamster primary embryonic cells. Test results of 10 chemicals. *Mutat. Res.*, 287:47-56, 1993.
50. DAHER, G.C.; HARRIS, B.E.; DIASIO, R.B.; Metabolism of pyrimidine analogues and their nucleosides. *Pharmacol. Ther.*, 48:189-222, 1990.
51. GENTHER, C.S.; SCHOENY, R.S.; LOPER, J.C.; SMITH, C.C.- Mutagenic studies of folic and antagonists. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 12:84-92, 1977.
52. CLIVE, D.; GLOVER, P.; APPLGATE, M.; HOZIER, J.- Molecular aspects of chemical mutagenesis in L5178Y/tk +/- mouse lymphoma cells. *Mutagenesis*, 5: 191-197, 1990.
53. HOCHHAUSER, D.- Modulation of chemosensitivity through altered expression of cell cycle regulatory genes in cancer. *Anticancer Drugs*, 8:903-910, 1997.
54. NATH, J.; KRISHNA, G.- Safety screening of drugs in cancer therapy *Acta Haematologica*, 99:138-147, 1998.
55. GRUMMT, T.; GRUMMT, H.J.; SCHOTT, G. - Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of nurses and physicians handling antineoplastic drugs *Mutat. Res.*, 302: 19-24, 1993.
56. HIRST, M.; MILLS, D.G.; TSE, S.; LEVIN, L.; WHITI, D.F. - Occupational exposure to cyclophosphamide. *Lancet*, 1:186-188, 1984.
57. SIEBERT, S.; ADAMSON, R.H. - Toxicity of antineoplastic agents in man: chromosomal aberrations, antifertility effects, congenital malformations and carcinogenic potential. *Adv. Cancer Res.*, 22:57-155, 1975.
58. SELEVEN, S.G.; LINDBOHM, M.L.; HORNUNG, R.W.; HEMMINKI, K. - A study of occupational exposure to antineoplastic drugs and fetal loss in nurse. *New. Engl. J. Med.*, 313:1173-1178, 1985.
59. BOS, R.P.; LEENARS, A.O.; THEUWS, P.T.; HENDERSON, P.T. - Mutagenicity of urine from nurses handling cytostatic drugs, influence of smoking. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, 50:359-369, 1982.
60. ÜNDEGER, Ü.; BASARAN, N.; KARS, A.; GÜÇ, D. - Assessment of DNA damage in nurses handling antineoplastic drugs by the alkaline COMET assay. *Mutat. Res.*, 439:277-285, 1999.
61. ANWAR, WA.; SALAMA, S.I.; EL SERAFY, M.M.; HEMIDA, S.A.; HAFEZ, A.S.- Chromosomal aberrations and micronucleus frequency in nurses occupationally exposed to cytotoxic drugs *Mutagenesis*, 9:315-317, 1994.
62. NORPPA, H.; SORSA, M.; VAINIO, H.; et al.- Increased sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *Scand. J. Work. Environ. Health*, 6:299-301, 1980.
63. RICH, D.C.; CORPIO, C.A.; SMITH, M.B.; BEACK, C.T.; LALLY, K.P.; ANDRASSY, R.J.- Second malignant neoplasms in children after treatment of soft tissue sarcoma. *J. Pediatr. Surg.*, 32:369-372, 1997.