

V Kx. \$

Revista Brasileira de Cancerologia

ISSN 0034-7116

Vol. 37
Nº 1/4
Jan./Dez.
1991



Órgão Oficial das Sociedades Brasileiras de:
Cancerologia
Oncologia Clínica
Oncologia Pediátrica
Cirurgia Oncológica

Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer (INCA)
Coordenação de Programas de Controle de Câncer (Pro-Onco)

CITARABINA PRONTA PARA USO

Alexan[®]



* *Facilidade de manipulação pelo pessoal de enfermagem.*

* *Perfeitamente adequada para mono e poliquimioterapia.*

* *Pode ser administrado por via IV, IM, SC e intratecal.*

MAIS UM PRODUTO COM A TRADIÇÃO E QUALIDADE.

 FARMITALIA CARLO ERBA

GRUPO ERBAMONT

Revista Brasileira de Cancerologia



Vol. 37

N^{os} 1/4

Jan./Dez. 1991

Sumário

- 3 Carcinossarcoma Uterino Pós-Radioterapia - Apresentação de um Caso. *Luiz Ferraz de Sampaio Neto, le Tjie Lian, Maria Lourdes Peris Barbo, José Carlos Menegocci, Edilson da Costa Ogeda e Ilzete Souza Couto*
- 7 Monitorização Biológica por Método Citogenético em Indivíduos Expostos Profissionalmente a Agentes Antineoplásicos. *Eny Maria Goloni-Bertollo, Antonio José Manzato e Marileila Varella-Garcia*
- 19 Dialquilnitrosaminas e Câncer. *Romilda E. Kuhn, M. Angélica Guzmán-Silva e Jorge S.P. Guimarães*
- 27 Citopunção Mamária por Capilaridade. Técnica e Análise da Eficácia do Método. *Deana Lopes Pompeu, Ana Luiza Rios Sanchez, Maurício Bezerra Cariello, Guillermo Ortega Jácome, José Ribeiro Filho, Fernando Miranda Henriques e Régis Sales Azevedo*
- 33 Study Models for Inducing Tumors by 7,12-Dimethylbenz (A) - Anthracene in Rat Mammary Gland. *Fernando Guimarães, Quivo Schwartzburd Tahin, Tereza Cristina Cavalcanti e Clara Pérola Baumel*
- 37 Hipernefroma: Revisão de 46 Casos. *José Pascoal Cortez, Carlos Hermann Schaal e Renato Prado Costa*
- 41 Tumores Malignos de Células Germinativas do Ovário: Expressão de Enolase Neurônio-Específica, Alfa-1-Antitripsina e Alfa-1-Antiquimotripsina. *José A.A. Crespo Ribeiro e Florêncio Figueiredo*
- 45 Carcinoma de Células Transicionais da Pelve Renal e do Ureter. *José Pascoal Cortez, Carlos Hermann Schaal e Renato Prado Costa*
- 51 Resistência a Múltiplas Drogas: Um Problema da Clínica Oncológica com Solução na Pesquisa Básica. *Ludmila S. Medina da Cunha, Fernando Medina da Cunha, Mary da Silva Thereza, Regina A. Martinho, André Augusto Jr. G. Moraes e Ricardo Lima Zoliner*
- 56 Notícias

Revista Brasileira de Cancerologia

EDITORES

Alfredo Guarischi
Evaldo de Abreu
Jorge Wanderley
Luís Eduardo Atalécio

CONSELHO EDITORIAL

Emílio Mitidieri (RJ)
Ricardo Brentani (SP)
Vivian Rumjanek (RJ)
Eduardo Faerstein (RJ)
Marcelo Gurgel (CE)
Marcos Moraes (RJ)
Jayme Marsillac (RJ)
Jacob Kligerman (RJ)
Rui Haddad (RJ)
Renato Amaral (RS)
Haroldo Juaçaba (CE)
Luís Carlos Zeferino (SP)
Nestor Piva (SE)
Onofre de Castro (RJ)
Maria Izabel S. Pinel (RJ)
Sergio Faria (SP)
Paulo Novaes (SP)
Luis Souhami (Canadá)
Miguel Guizzardi (RJ)
Arthur Katz (SP)
Gilberto Schwartzmann (RS)
Ademar Lopes (SP)
Ernani Saltz (RJ)
José Carlos do Valle (RJ)
Juvenal Oliveira Filho (SP)
Sergio E. Allan (RJ)
Herbert Praxedes (RJ)
Sílvia Brandalise (SP)
Sergio Petrilli (SP)
João Paulo Matushita (MG)
Waldir Pereira (RS)

SBOC: Sergio Lago (RS)
SBCO: Odilon Souza Filho (RJ)
RADIOTERAPIA: José Waldemar Petitto
SOBOPE: Vicente Odone Filho
Soc. Bras. Patologia Cervical Uterina e
Colposcopia: Waldemar Rivoire

JORNALISTA RESPONSÁVEL

Ana Maria Funke

PROJETO GRÁFICO E PRODUÇÃO

CIDADE-Editora Científica Ltda.
Rua México, 90 - 2º andar - sala 201
20031 - Rio de Janeiro - RJ
Tels.: 240-4578, 240-4728, 262-4764
Telefax: 262-5462

IMPRESSÃO E ACABAMENTO

Editora Gráfica Serrana
Petrópolis - RJ

SECRETÁRIA

Marcia Fernandes de Souza

Ministério da Saúde
INCa • Pro-Onco

A *Revista Brasileira de Cancerologia* (ISSN 0034-7116) é uma publicação do Instituto Nacional de Câncer/Pro-Onco/Ministério da Saúde. É editado um volume anual dividido em quatro números. Impresso no Brasil.

Endereço editorial:

Coordenação de Programas de Controle
de Câncer (Pro-Onco)
Av. Venezuela, 134 - bloco A - 9º andar
20081 - Rio de Janeiro - RJ
Tels.: 253-1956 - 263-8565
Fax.: 263-8297

Informações sobre o direito de cópia (copyright). *É condição, para efeitos da publicação, que os manuscritos enviados a esta revista sejam inéditos e destinados exclusivamente a ela. Ao enviar o manuscrito, os autores concordam em que os direitos de cópia sejam transferidos à revista, desde que aceito para publicação. Os direitos de cópia (copyright) incluem os direitos exclusivos para reproduzir e distribuir o artigo, incluindo separatas, reproduções fotográficas, microfilmagem ou qualquer outra reprodução de natureza similar. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, arquivada em sistema recuperável ou de transmissão em qualquer outra forma, sem permissão por escrito do possuidor dos direitos de cópia (copyright).*

Outras revistas científicas e as publicações de sumários podem reproduzir os resumos dos artigos publicados sem autorização prévia.

Os autores são os responsáveis exclusivos pelas opiniões expressas nos trabalhos assinados. A menção de companhias ou empresas específicas ou de certos produtos manufaturados não implica sua recomendação ou endosso pelos editores.

A *Revista Brasileira de Cancerologia* (Rev. Bras. Cancerol.) está indexada no Index Médico Latino-Americano - ISSN - 0034-7116.

Revista Brasileira de Cancerologia
© 1987 Instituto Nacional de Câncer

Carcinossarcoma uterino pós-radioterapia - Apresentação de um caso

LUIZ FERRAZ DE SAMPAIO NETO¹, IE TJIE LIAN¹, MARIA LOURDES PERIS BARBO²,
JOSÉ CARLOS MENEGOCCHI³, EDILSON DA COSTA OGEDA⁴, ILZETE SOUZA
COUTO⁴

Trabalho realizado na Disciplina de Ginecologia da Faculdade de Medicina de Sorocaba
- CCMB-PUCSP.

Resumo

O carcinossarcoma uterino é neoplasia rara; apresenta em sua estrutura elementos indiferenciados do estroma endometrial e elementos sarcomatosos homólogos ao útero.

A taxa observada de aparecimento destas lesões na população é de 0,8 por 100 mil mulheres. Ocorre com freqüência maior entre as mulheres que se submeteram à radioterapia, atingindo a taxa de 4,3 por 100 mil mulheres nesta população selecionada.

A relação entre a radioterapia e o desenvolvimento de carcinossarcoma uterino não pode ser comprovada estatisticamente, dada à raridade da neoplasia, mas provavelmente a radioterapia é um importante fator para o desenvolvimento posterior de tais tumores.

Por essa razão, é fundamental o acompanhamento a longo prazo de mulheres que se submeteram à radioterapia pélvica.

Apresentamos o caso de uma paciente tratada de câncer de colo uterino há 14 anos, com radioterapia exclusiva, e que retornou ao serviço apresentando carcinossarcoma uterino.

Unitermos: câncer de útero; carcinossarcoma; neoplasia pós-radioterapia

Introdução

Sabe-se que a grande maioria dos tumores malignos do útero é constituída pelos carcinomas, seja o adenocarcinoma ou o carcinoma epidermóide. Menos freqüentes (3 a 5% dos tumores malignos do corpo uterino), os sarcomas se originam do estroma, do endométrio ou das células musculares lisas do miométrio. O mais comum é o leiomiossarcoma, originado de células musculares lisas.

Existe um grupo pouco freqüente de neoplasias do útero, de caráter misto, em que, no mesmo tumor, podem-se encontrar um componente carcinomatoso e outro sarcomatoso, em proporções variáveis. O componente epitelial é representado por um adenoma ou, mais raramente, por um carcinoma epidermóide. O componente sarcomatoso tem origem nas células do estroma epitelial.

Carcinossarcoma é a designação dada àqueles

tumores com componente epitelial maligno e sarcomatoso indiferenciado.

Os tumores nos quais as células do estroma endometrial se diferenciam em elementos não existentes no útero (músculo estriado, osso, cartilagem etc.) recebem o nome de tumores mesodérmicos mistos.

É possível que os carcinossarcomas e os tumores mesodérmicos mistos tenham a mesma origem. Ambos derivariam de células indiferenciadas do estroma endometrial, com elementos sarcomatosos homólogos ao útero (carcinossarcomas) ou heterólogos (tumores mesodérmicos mistos). Embora tendo eles a mesma origem, diversos autores têm referido um prognóstico mais sombrio para os tumores mesodérmicos mistos, o que nos leva a acreditar que a diferenciação entre os dois grupos deva ser mantida.

Norris & Taylor [1], em extenso levantamento, demonstraram que 12% das pacientes portadoras de sarcomas uterinos tinham antecedentes de irradiação

¹Auxiliar de Ensino da Disciplina de Ginecologia; ²Auxiliar de Ensino da Disciplina de Anatomia Patológica; ³Professor Titular de Ginecologia; ⁴Alunos do 6º Ano. Endereço do autor para correspondência: Rua Brigadeiro Tobias, 260 - Centro - Sorocaba - SP - CEP 18100

pélvica, encontrando-se, entre estas, maior frequência de tumores mesodérmicos mistos e carcinossarcomas. É interessante notar que nenhuma das pacientes com leiomiossarcoma possuía tal antecedente.

Algumas ginecopatias benignas, com a descrição do uso dos raios-X por Deutch, em 1904, e da radioterapia por Ouidin, em 1907, encontraram nas radiações ionizantes uma opção para seu tratamento [2]. Aos poucos, o uso da radioterapia se generalizou entre os serviços de ginecologia, sendo preconizada para o tratamento de patologias como processo inflamatório anexial, hemorragia uterina disfuncional e miomatose uterina. Em geral, as doses de radiação eram sensivelmente menores que aquelas utilizadas para patologias malignas.

Paralelamente a isso, conhecia-se a potencialidade oncogênica das radiações ionizantes, mas até 1956 [2] não existia nenhum autor que afirmasse com certeza que a irradiação pélvica, em condições benignas, predispucesse as pacientes a uma maior incidência de neoplasia maligna do útero ou de outros órgãos pélvicos.

Tal possibilidade, no entanto, já era suspeita por vários autores, de modo que, a partir do final da década de 1940, alguns serviços de ginecologia passaram a restringir a indicação de radioterapia em patologias benignas, utilizando-a apenas nos casos em que as pacientes não apresentassem condições para a cirurgia.

Com o tempo, as suspeitas passaram a se confirmar. Algumas mulheres portadoras de patologias benignas e que foram tratadas com radioterapia voltaram aos serviços, anos depois, apresentando agora câncer ginecológico. Além disso, algumas mulheres portadoras de câncer do colo uterino, e que haviam sido tratadas previamente pela irradiação, apresentavam agora tumores do corpo uterino, do tipo tumor mesodérmico misto ou carcinossarcoma [3, 4].

Como a incidência destes tumores é pequena, não é possível a confirmação estatística de tal associação. Apesar da relação causa-efeito não poder ser estabelecida, alguns autores sugerem uma relação entre a radioterapia em baixas doses, como a utilizada nas condições benignas, e o aparecimento de tumores mesodérmicos mistos.

Propõe-se que as doses radioterápicas mais baixas não teriam a propriedade de destruição tissular, como ocorre na terapêutica do câncer, servindo como estímulo para o desenvolvimento de neoplasia maligna e agindo em associação com os outros fatores de risco [5, 6].

Apresentamos a seguir um caso onde encontramos tal associação:

B.R.O., 41 anos, casada, branca, professora. Há três meses notou aumento do volume abdominal, associado a dor no hipogástrio, contínua, em queimação e sem irritação. Havia melhora com o repouso e piora com a movimentação. Pouca melhora atual com o uso de analgésicos. Refere câncer do colo uterino tratado com radioterapia exclusiva há 14 anos, não tendo retornado para controles. Menarca aos 12 anos, menopausa aos 27 anos (com a radioterapia). Início da vida sexual ativa aos 12 anos. Referiu quatro gestações e quatro partos normais, último parto há 16 anos. Nega sinusorragia, disporeunia, sintomas urinários, mamários, leucorréia e alterações intestinais.

Ao exame físico apresentava-se em regular estado geral, descorada eupneica e anictérica. O abdome apresentava-se globoso, com tumoração em todo o baixo-ventre, fixa e dolorosa, alcançando a cicatriz umbilical.

Ao exame ginecológico, o especular, não apresentava alterações do colo e da vagina. Ao toque, percebeu-se tumoração no baixo-ventre, semifixa à pelve, não se conseguindo individualizar o útero e os anexos. O toque retal revelou paramétrios fixos bilateralmente, com compressão extrínseca do reto pelo tumor.

A ultra-sonografia mostrou tumor de 7 x 15 x 16,2 cm, ocupando toda a pelve, de textura heterogênea e de contornos bocelados.

Indicada a laparotomia, encontrou-se tumor uterino de aproximadamente 15 cm de diâmetro, friável, acinzentado, aderido ao cólon, intestino delgado e epíploon.

Procedeu-se à histerectomia subtotal, pela impossibilidade técnica de se retirar o cólon, associada à omentectomia e à retirada de cerca de 25 cm do íleo distal, infiltrado pelo tumor.

O exame microscópico revelou tumor mesodérmico misto com componente glandular maligno pouco diferenciado e em pequena quantidade. O componente sarcomatoso também era indiferenciado e constituído por células fusiformes pequenas. Havia freqüentes células atípicas multinucleadas. O índice mitótico era alto. Raramente se evidenciava aspecto mixomatóide laxo semelhante ao sarcoma botrióide. Além disso, evidenciavam-se focos de metaplasia condróide com presença de cartilagem de características malignas como o condrossarcoma. Havia freqüentes embolizações tumorais em vasos sanguíneos e linfáticos (Figuras 1 e 2).

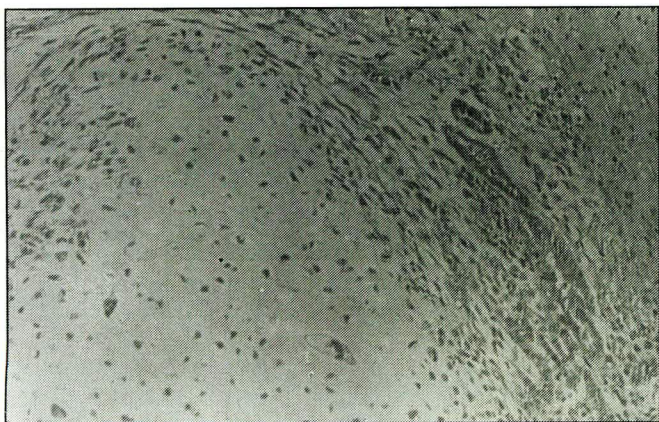


Figura 1. Coloração por H.E., aumento de 400x. Na fotografia acima verificamos em sua porção superior, extremidade direita, a presença de glândulas atípicas; à esquerda temos focos de metaplasia condróide de caráter neoplásico.

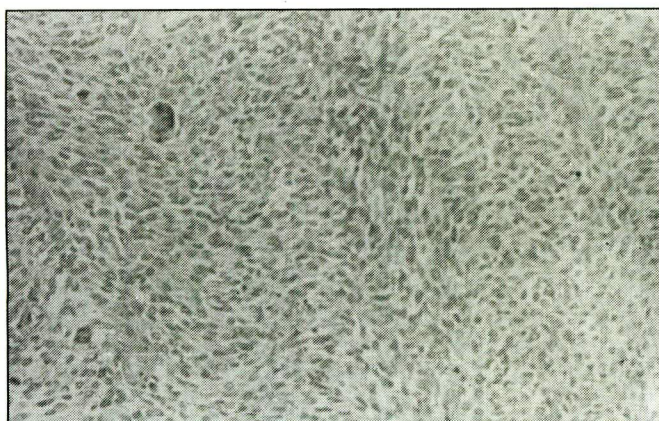


Figura 2. Coloração por H.E., aumento de 400x. Nesta fotomicrografia podemos notar a presença de área sarcomatosa fusiforme, bem como de eventuais células gigantes.

Discussão

Embora não se possa traçar uma relação etiológica direta entre tumor mesodérmico misto e radioterapia prévia, a taxa observada destes tumores em pacientes submetidas à radioterapia prévia é de 4,3 por 100.000 mulheres, enquanto que na população em geral essa taxa é de 0,8 por 100.000 [7, 8, 9].

O espaço de tempo entre a radioterapia e os sinais clínicos do tumor mesodérmico misto varia de 18 meses a 22 anos, segundo Czesnin et al. (1978), e de 4 a 36 anos, segundo Afonso (1974). Em nosso caso, o intervalo entre a radioterapia e o início da sintomatologia foi de aproximadamente 14 anos [10, 11].

A sintomatologia em nosso caso foi muito escassa: apenas dor e aumento do volume abdominal. Segundo outros autores, a associação de dor em cólica e o

sangramento vaginal são os sintomas mais frequentemente encontrados. São referidas, ainda, secreção purulenta vaginal, saída de material necrótico pela vagina, e sintomas decorrentes de compressão ou obstrução de órgãos adjacentes [6, 10-14].

A terapêutica para os sarcomas uterinos, segundo Baruffi [9], seria a histerectomia total, acrescida de salpingo-ooforectomia bilateral nos estádios iniciais. Nos estádios avançados, está indicada a cirurgia "cito-redutora", associada à radioterapia (que é considerada pouco eficiente nestes tumores). Se houver evidências de crescimento tumoral à distância, deve-se associar a quimioterapia.

Os dois fatores mais importantes para o prognóstico são o grau de infiltração miometrial e a infiltração das estruturas adjacentes. De modo geral, o prognóstico nestes tumores que tenham antecedentes de radioterapia não é bom, e a sobrevida em cinco anos é de aproximadamente 21%.

Tendo em vista as dificuldades técnicas, realizamos, em nosso caso, a cirurgia "cito-redutora", que foi complementada pela radioterapia. A paciente veio a falecer, pela patologia, após seis meses do diagnóstico.

Apesar de não ser possível quantificar o papel da radioterapia no desenvolvimento posterior de tumores mesodérmicos mistos, sabemos que ela é um dos fatores que contribuem para o desenvolvimento de tais neoplasias em indivíduos predispostos. Por este motivo se recomenda o seguimento, por mais de 20 anos, das pacientes que se submeteram à radioterapia, já que o diagnóstico precoce melhora muito o prognóstico das portadoras de tumores mesodérmicos mistos do útero.

Summary

Uterine carcinosarcoma is a rare neoplasm with mixed stromal and sarcomatous components of the endometrium.

Literature data shows the higher frequency of carcinosarcoma among irradiated women.

Probably this relationship is the expression of a stimulation action of radiotherapy in the development of uterine sarcomas.

It is recommended that patients be followed for more than 20 years after irradiation to detect post-irradiation cancer.

The present one is the case of a women treated for cervical cancer with radiotherapy 14 years ago; now she returns with a uterine carcinosarcoma.

Key words: cancer of the uterus; carcinosarcoma; post-radiotherapy neoplasm

Referências bibliográficas

1. NORRIS HJ, TAYLOR HB. Post irradiation sarcomas of the uterus. *Obstet Gynecol* 1965; 26: 689-694.
2. PALMER JP, SPRATT DW. Pelvic carcinoma following irradiation for benign gynecological diseases. *Am J Obstet Gynecol* 1956; 72: 497-505.
3. MEREDITH RF, RISERT DR, KAKA Z, HODGSON SG, JOHNSTON GA, BOUTSELIUS JG. An excess of uterine sarcomas after pelvic irradiation. *Cancer* 1986; 58: 2003-2007.
4. MOULD RF, BARETT A. New primary cancers in patients originally presenting with carcinoma of the cervix. *Br J Obstet Gynecol* 1976; 83: 81-85.
5. SEYDEL HG. The risk of tumor induction in man following medical irradiation for malignant neoplasm. *Cancer* 1975; 35: 1641-45.
6. THOMAS WD, HARRIS HH, ENCHEN JA. Post-irradiation malignant neoplasms of the uterine fundus. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 104: 209-219.
7. BAILAN JC. The incidence of independent tumors among uterine cancer patients. *Cancer* 1963; 16: 842-53.
8. BOICE Jr. JD et al. Second cancer following radiation treatment for cervical cancer. An international collaboration among cancer registries. *JNCI* 1985; 74: 955-75.
9. BARUFFI I. *Tratado de oncologia tocoginecológica e mamária*. 2ª ed. São Paulo, Roca 1985: 362.
10. CZESNIN K, WRONKONSKI Z. Second malignancies of the irradiated area in patients treated for uterine cervix cancer. *Gynecol Oncol* 1978; 6: 309-15.
11. AFONSO JF. Mixed mesodermal tumors of the uterus. *West J Med* 1974; 120: 17-26.
12. MARCHESE MJ, LISKOW AS, CRUM CP, McCAFFREY RM, FRICK II HC. Uterine sarcomas: a clinicopathologic study, 1965-1981. *Gynecol Oncol* 1984; 18: 299-312.
13. NORRIS HJ, ROTH E, TAYLOR HB. Mesenchymal tumors of the uterus. II. A clinical and pathologic study of 31 mesodermal tumors. *Obstet Gynecol* 1966; 28: 57-63.
14. NORRIS HJ, TAYLOR HB. Mesenchymal tumors of the uterus. III. A clinical and pathologic study of 31 carcinosarcomas. *Cancer* 1966; 19: 1459-65.

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 hematopoiético, 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*		

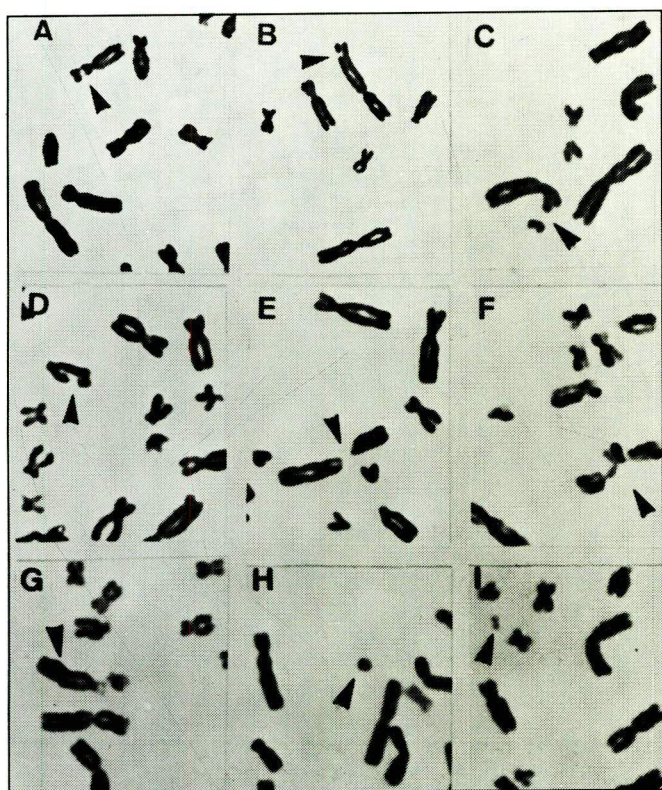


Figura 1. Metáfases parciais com: (A) falha cromossômica em indivíduo da amostra C; (B) falha cromatídica; (C) quebra cromossômica; (D) quebra cromatídica; (E) quebra centromérica; (F) figura trirradial; (G) cromossomo do grupo D com o braço longo aumentado; (H) fragmento cromossômico; (I) "double-minutes", 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 ($dms_{0,01} = 0,42$).

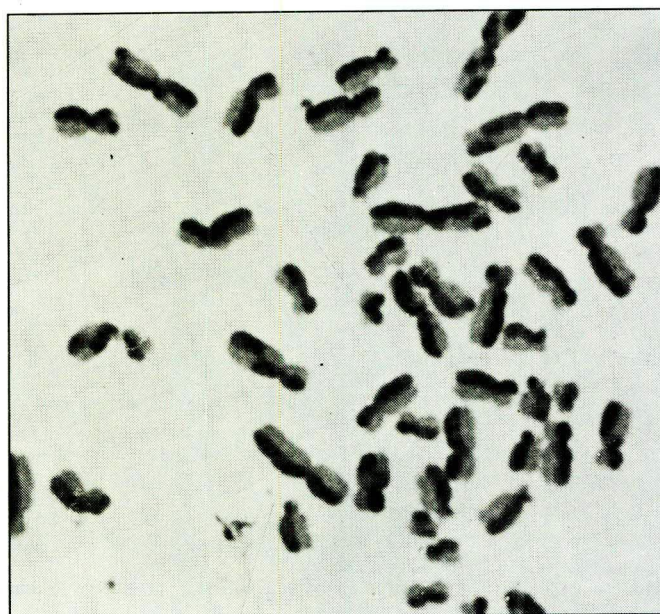


Figura 2. Trocas entre cromátides-irmãs: metáfase completa com 18 TCI.

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	t	\bar{X}	\pm	Sx	t
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			17,82	1,28		
< 12 meses	8	8,88	1,49			14,72	1,48		
> 12 meses, > 16 h semanais	7	7,57	1,36			16,58	1,31		
Dispositivos de proteção usados									
Apenas luvas	6	6,00	0,96			15,32	2,11		
Avental, luvas e máscaras	8	9,63	1,52			16,22	1,05		
Manipulação de antineoplásicos mais tóxicos									
< 4 tipos	11	7,00	0,95			14,40	1,02		
> 4 tipos	4	11,75	1,93			21,80	1,24		
Escolaridade									
Formação em curso superior	7	6,14	0,80			15,42	1,23		
Formação técnica prática	8	10,13	1,49			15,97	1,57		

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.

INCaRNPT

1

Instituto Nacional de Câncer

Registro Nacional de Patologia Tumoral - RNPT

O câncer representa um problema de saúde pública no Brasil, e o Ministério da Saúde tem a responsabilidade de desenvolver ações de controle desta doença. Para isto, é necessária a estruturação de atividades multidisciplinares na área da oncologia, entre as quais se destaca a informação em câncer. Os dados estatísticos permitem conhecer a extensão real do problema e oferecem subsídios para o planejamento das ações que devem ser desenvolvidas.

Em 1975, o Ministério da Saúde optou pelo levantamento epidemiológico através dos estudos de frequência relativa, os quais sempre se mostraram fonte valiosa de epidemiologia descritiva. Neste ano, a Divisão Nacional de Doenças Crônicas-Degenerativas - DNDCD criou um programa do qual foram geradas as bases do Registro Nacional de Patologia Tumoral - RNPT. Um trabalho cuidadoso e abrangente foi desenvolvido em todo o território nacional, iniciando-se com o treinamento de pessoal da área da saúde envolvido com a estruturação do sistema de informação em câncer. Pessoal médico e paramédico foi treinado quanto à metodologia a ser utilizada na coleta e na notificação de dados para o RNPT.

O resultado inicial desse programa foi a publicação intitulada *Registro Nacional de Tumores*, lançada pelo Ministério da Saúde, em 1978, de autoria de Humberto Torloni e Rodolfo Brumini. Nela colaboraram 109 laboratórios de anatomia patológica de todo o país, fontes dos 43.625 diagnósticos histopatológicos de câncer informados no ano de 1975.

Posteriormente, em 1982, o mesmo programa do Ministério da Saúde publicou o livro *Câncer no Brasil, Dados Histopatológicos, 1976-80*, com a editoria de Rodolfo Brumini e a colaboração de 279 dos 306 laboratórios cadastrados, que enviaram ao RNPT o total de 369.767 diagnósticos histopatológicos de câncer.

A divulgação dos dados teve grande repercussão nacional e internacional, e a publicação passou a ter ampla utilização como fonte de informação estatística em oncologia, quer pelos setores de gerenciamento, quer pelos científicos. Os dados do RNPT têm sido, desde a sua publicação, em 1982, freqüentemente citados e têm servido como diretrizes para o desenvolvimento de outros estudos epidemiológicos, de natureza mais específica e com o objetivo

de obter dados que representem indicadores mais fidedéjos da situação do câncer no Brasil.

Após a publicação dos dados relativos ao quinquênio 1976-80, o RNPT passou por uma fase de desativação.

Em 1986, a DNDCD, sob a direção de Geniberto Paiva Campos, decidiu manter o RNPT como um setor estável do Ministério da Saúde, e atualmente, como uma seção da Divisão de Informação em Câncer, da Coordenação de Programa de Controle do Câncer do INCa. O RNPT vem cumprindo a sua função.

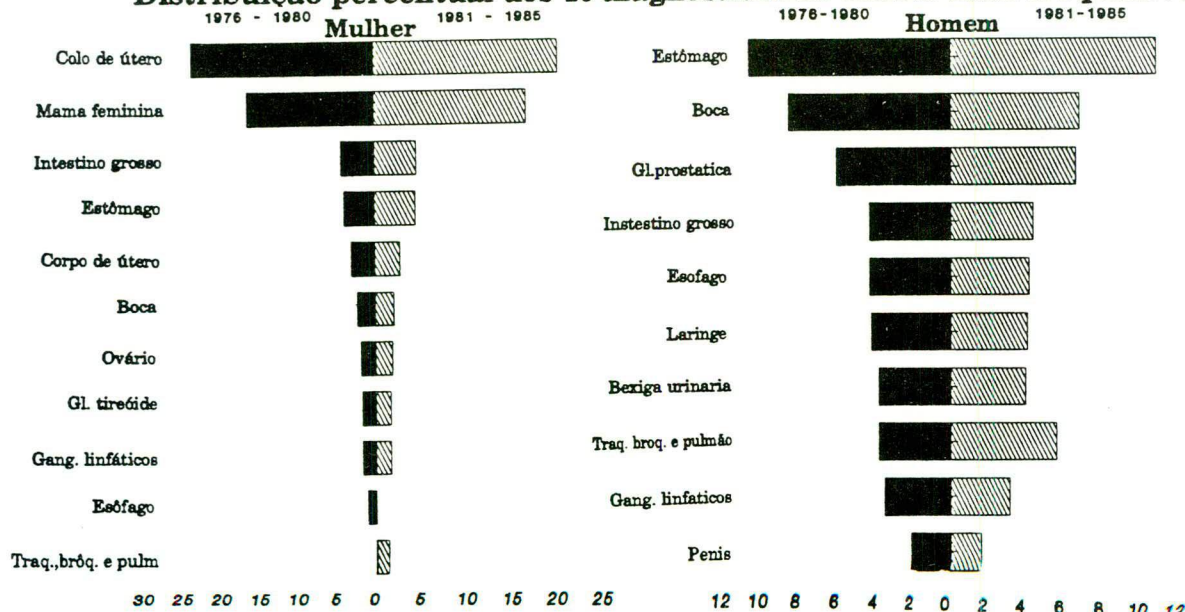
O RNPT fundamenta-se no reconhecimento de que um registro é um dos elementos fundamentais na definição de diretrizes e normas para o desenvolvimento de programas eficientes de prevenção e controle do câncer. Além disso, ressaltam-se outras atividades importantes do RNPT, quais sejam: a ampla divulgação da Classificação Internacional de Doenças para Oncologia (CID-O); a divulgação dos dados coletados através da produção e distribuição de informes que enfoquem estudos científicos de patologias específicas; o estabelecimento, com base nos dados coletados, de estudos de autocontrole de qualidade nos laboratórios cadastrados que por ela se mostram interessados; e a oferta de um sistema de consultoria em diagnósticos, permanentemente disponível para todo o território nacional. Sem dúvida, suas publicações constituem-se na atualização do produto do RNPT de maior utilização pelo pessoal envolvido na área de saúde.

No período de 1986 a 1988 fizemos a coleta de dados referentes aos anos de 1981-85. Em 1989 elaboramos os relatórios descritivos e analíticos dos 564.673 diagnósticos citopatológicos, hematocitopatológicos e citopatológicos de câncer, levantados por 442 laboratórios de patologia de todo o país.

Enquanto aguardamos a finalização da publicação desse levantamento, resolvemos emitir e distribuir nesses próximos meses alguns informes com as principais tabelas que retratam esses resultados.

Nos gráficos abaixo, damos a distribuição percentual dos 10 diagnósticos de câncer mais freqüentes (exceto câncer de pele), de acordo com a localização primária, o sexo e o quinquênio 1976 - 1985.

Distribuição percentual dos 10 diagnósticos de câncer mais freqüentes



Dialquilnitrosaminas e câncer

ROMILDA E. KUHN¹, M. ANGÉLICA GUZMÁN-SILVA², JORGE S.P. GUIMARÃES³

Trabalho realizado no Hospital Universitário Antônio Pedro - Niterói - RJ.

Unitermos: nitrosaminas e câncer

Introdução

Desde a observação pioneira de Pott, em 1775, relacionando um agente ambiental, a fuligem, com a ocorrência de câncer de escroto em limpadores de chaminé, seguida da observação de Rehn, no século XIX, sobre o câncer de bexiga em operários de fábricas de corantes, não há mais dúvida quanto ao fato de que diversos elementos do meio ambiente, substâncias químicas, radiações e provavelmente vírus são responsáveis por alguns tipos de câncer no homem.

Hoje em dia, a maior parte dos cânceres humanos pode ser associada ao estilo de vida [1], principalmente tabagismo e dieta [2]. Fatores relacionados à nutrição participaram no desenvolvimento neoplásico, seja através de aditivos ou contaminantes alimentares que podem agir como carcinógenos, cocarcinógenos ou ambos, ou pela liberação de produtos metabólicos com essa capacidade, a partir de determinados componentes da dieta [1]. Do total de neoplasias, 5% são atribuídas a fatores específicos da dieta, entre eles nitratos e nitritos, afetando principalmente o fígado [2].

A seguir apresentaremos informações referentes a compostos N-nitroso, particularmente dialquilnitrosaminas, e sua participação na indução de neoplasias experimentais, bem como no homem.

Dialquilnitrosaminas

As N-nitrosaminas, entre elas as dialquilnitrosaminas, como dimetil-, dietil- e dibutilamina, são um grupo de compostos N-nitroso que exercem efeitos tóxicos e carcinogênicos sobre vários tecidos e órgãos, em diversas espécies animais e provavelmente no homem [3-10].

A dietilnitrosamina (DENA) é um líquido volátil, amarelo, solúvel em água, lipídios e solventes orgâ-

nicos. Quando em solução aquosa alcalina ou neutra, mantida no escuro, é estável à temperatura ambiente por um período superior a 14 dias, porém é sensível à luz, principalmente à luz ultravioleta [5].

As dialquilnitrosaminas têm sido detectadas em diversos elementos do meio ambiente, tais como ar poluído, fumo, certas bebidas alcoólicas, determinados alimentos naturais e outros submetidos a processos físico-químicos de conservação [5, 11]. Em análise de fumo concentrado de diversos cigarros comerciais, o teor de DENA atingiu até 28 ng/cigarro, e o de dimetilnitrosamina (DMNA), até 160 ng/cigarro [12]. Quanto aos alimentos, a DENA tem sido registrada em queijos, até 30 mg/kg, em óleo de soja, 4 mg/kg, e em peixes e carnes, níveis diversos, dependendo do procedimento de conservação, 147 mg/kg em arenque assado e até 21 mg/kg em peixe seco salgado, 91 mg/kg em carne defumada e 40 mg/kg em carnes em conserva [5].

A síntese desta substância ocorre através da reação da dietilamina como ácido nitroso [5], e estudos experimentais têm demonstrado a indução de neoplasias pela ingestão simultânea de nitrito e aminas secundárias [4, 7], devida provavelmente à formação *in vivo* de nitrosaminas.

As nitrosaminas, de um modo geral, podem ser produzidas bioquimicamente nas condições naturalmente ácidas do estômago, pela ingestão e nitrosação subsequente de aminas secundárias. O agente nitrosante - ácido nitroso - seria formado pela reação do suco gástrico com nitritos presentes nos alimentos, uma vez que são amplamente utilizados como preservadores alimentares. Por outro lado, sabe-se que certos alimentos vegetais - beterraba, espinafre, berinjela - contêm teores elevados de nitratos que podem ser reduzidos a nitritos em meio ácido, pela ação de bactérias que produzem a enzima nitroso-reductase [4, 13, 14]. Esses microorganismos estão

¹Professor Titular, AFE; ²Professor Assistente, UFF. ³Professor Titular, UFF. Endereço do autor para correspondência: Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UFF, Rua Marquês de Paraná, 303, Niterói - RJ - CEP 24030.

naturalmente presentes em alimentos, conteúdo gastrointestinal e saliva [4].

Experimentalmente, em ratos, a ingestão de doses elevadas de nitrito de sódio aumentou a incidência de tumores renais, hepáticos, da glândula mamária, do trato gastrointestinal e do sistema linfo-hematopoiético, devido provavelmente a nitrosação *in vivo* de aminas e amidas [15]. No homem, após a ingestão de determinados alimentos, tem sido registrado aumento dos níveis sanguíneos de nitrosaminas. Assim, uma refeição contendo espinafre, 310 g, e toucinho, 170 g, duplicou o teor sanguíneo de DMNA, de 354 mg/l a 771 mg/l, e quintuplicou o de DENA, de 90 mg/l a 460 mg/l. Isto demonstra que as nitrosaminas podem ser sintetizadas no homem, *in vivo*, após ingestão de alimentos ricos em nitratos ou nitritos [16]. Mais ainda, existe uma quantidade considerável de compostos nitrogenados potencialmente reativos no suprimento alimentar. Certos vegetais e produtos de origem animal - bacalhau, presunto - são particularmente ricos em aminas secundárias e terciárias, as quais podem reagir com o ácido nitroso, resultando na síntese de compostos N-nitrosos, entre os quais as dialquilnitrosaminas [4, 17].

As nitrosaminas, de um modo geral, quando injetadas no organismo, persistem por período longo, sendo carregadas pela circulação, e produzem severa toxicidade nos órgãos alvo, principalmente o fígado, com praticamente nenhuma patologia no local da inoculação [13].

As dialquilnitrosaminas requerem ativação metabólica para poder exercer seus efeitos tóxicos e carcinogênicos [13, 14, 18, 19]. A metabolização se dá pelas oxidases microssomais dos hepatócitos, com a participação de oxigênio e nucleotídeos de piridina reduzidos como co-fatores. A reação oxidativa inicial forma um composto intermediário hidroxilado instável, que se decompõe espontaneamente gerando carbônio reativo, o qual pode rapidamente alquilar macromoléculas-alvo da célula [6, 13, 14, 19].

Pesquisas realizadas em camundongos C57Bl, com o uso de técnicas histoautorradiográficas, demonstraram que não só o fígado, mas também outros tecidos - mucosas nasal, traqueal, brônquica, esofágica e lingual, glândulas salivares e lacrimais - têm competência metabólica para decompor a DENA [19], provavelmente pelo sistema enzimático de oxidases microssomais de função mista, dependente de citocromo P-450 [6, 14].

A carcinogenicidade organo-específica exibida por essa substância é, em parte, dependente do seu metabolismo nos tecidos susceptíveis [6]. Admite-se a existência de algumas propriedades, em determinados tecidos, que os tornam refratários à carcinogenicidade das nitrosaminas. Por exemplo, a intensidade e o local de reação do metabólito reativo com o ADN

e a capacidade de reparo dessas moléculas de ADN danificadas têm sido relacionados com a susceptibilidade dos órgãos ao carcinógeno. Por outro lado, postula-se que os tecidos refratários teriam capacidade de detoxicação das dialquilnitrosaminas por uma via metabólica que não leva à formação de metabólitos reativos [19].

O efeito organotrópico dos compostos N-nitroso depende, parcialmente, da via ou local de administração [7]. Contudo, parece haver uma estreita relação entre a metabolização nos diversos órgãos-alvo, gerando radicais alquilantes - íon carbônio - e o efeito quer seja tóxico ou carcinogênico das nitrosaminas [6, 10, 13, 14, 20-23].

A molécula alquilante ativa - íon carbônio - reage com vários sítios nucleofílicos das macromoléculas celulares. Assim, a lesão hepatotóxica aguda tem sido atribuída à alquilação de proteínas e ácidos nucleicos [20-22], e o efeito genotóxico têm sido relacionado à carcinogenicidade [6, 24-26]. Diversos locais específicos de alquilação dos ácidos nucleicos tem sido identificados [6, 13, 14, 26], ocorrendo principalmente a formação de N-7-alquilguanina [23]. Todavia, é bem provável que a estabilidade da ligação íon carbônio-base nitrogenada ou a incapacidade de reparo do ADN alterado sejam os eventos críticos do efeito carcinogênico das dialquilnitrosaminas [14, 24, 25]. A formação de O⁶-alquilguanina parece correlacionar-se melhor ao efeito carcinogênico, por ter maior estabilidade [6, 14] e capacidade mutagênica [6, 24, 26, 27].

Já foi comprovado que, em diversas linhagens celulares derivadas de neoplasias malignas humanas, bem como em tumores induzidos em roedores mediante carcinógenos químicos, acontece ativação de genes da família ras, por mutação pontual, e recentemente foi detectada ativação do oncogene N-ras em alguns carcinomas hepatocelulares induzidos com dibutilnitrosamina (DBNA) em ratos [28].

Muitos hepatocarcinógenos, entre eles as dialquilnitrosaminas, através do carcinógeno ativo - íon carbônio - interagem com as organelas celulares, alterando suas funções [29]. Estudos da carcinogênese hepática, com nitrosaminas em roedores, têm demonstrado a ocorrência de subpopulações hepatocelulares, que apresentam em estágios precoces alterações enzimáticas características [24-26, 29-31], além de hiperbasofilia citoplasmática [25, 26, 29, 32, 33]. Nos focos de hepatócitos alterados, tem sido detectada deficiência de adenosina-trifosfatase (ATP-ase) e glicose-6-fosfatase [25, 26, 30, 31, 34], bem como presença de gama-glutamyl-transferase (γ -GT) [25, 26, 31, 34], acúmulo persistente de glicogênio [24, 29], acúmulo de ARN [33] e resistência ao acúmulo de ferro [25, 26, 34]. Os hepatócitos desses focos hiperbasofílicos são mais resistentes à citotoxicidade do microambiente tissular [24-26, 29, 32] e

exibem maior potencial de crescimento [30, 32], evidenciado por uma maior taxa de síntese de ADN [25, 26, 31] e um índice mitótico elevado [25, 26]. Essas populações focais com expressão fenotípica aberrante teriam caráter pré-neoplásico [24-26, 29-33].

O efeito carcinógeno das nitrosaminas, em diversas espécies animais, resulta na indução de tumores benignos e malignos, quando administradas por diversas vias, tais como transplacentária, tópica, oral, parenteral e inalação [3, 5, 7, 8]. Os principais órgãos-alvo integram trato gastrointestinal alto, trato respiratório e trato urinário [5, 8, 10]. Contudo, diversos fatores interferem tanto no organotropismo quanto no tipo de tumor induzido, entre eles citamos idade, sexo, linhagem/espécie animal e dose administrada [7, 10, 35-49]. Como já foi comentado, em última instância esses fatores estariam relacionados com a capacidade de metabolização das dialquilnitrosaminas, gerando radicais eletrofílicos, os quais, ao alquilar bases nitrogenadas (O^6 -alquilguanina), teriam efeito mutagênico, inclusive ativando determinados oncogenes e desencadeando assim o desenvolvimento neoplásico.

Inicialmente, o efeito carcinógeno das dialquilnitrosaminas foi demonstrado em ratos, por Magee e Barnes (1956), que utilizaram DMNA [6], e por Schmähl, e sua equipe (1960), que trabalharam com DENA [5]. Posteriormente, numerosas pesquisas confirmaram e ampliaram esse achado utilizando vários modelos experimentais, em diversas espécies/linhagens animais. Na maioria dos casos foram observados tumores hepatocelulares, freqüentemente com metástase pulmonar [5].

Modelos experimentais

A DENA administrada diariamente, por via oral, a ratos BD com quatro meses de idade, em pequenas doses (0,3-4,8 mg/kg p.c.), determinou carcinomas hepatocelulares após longo período de latência, doses mais elevadas (9,6-14 mg/kg p.c.) induziram cirrose e câncer, e acima de 14,2 mg/kg p.c. a DENA teve efeito letal [50].

Experiência realizada em ratos Buffalo, ambos os sexos e diversas idades, administrando-se DENA 0,0114% na ração, durante 26 semanas, demonstrou maior sensibilidade à droga, quanto ao sexo, nas fêmeas jovens, e, quanto à idade, nos animais com quatro semanas de idade vs. 12, 24 e 52 semanas. O padrão histológico das neoplasias hepáticas induzidas, em ordem de freqüência, foi carcinoma hepatocelular pouco diferenciado, carcinoma hepatocelular bem diferenciado, carcinoma indiferenciado, heman-gioendoteliossarcoma e colangiocarcinoma [40].

Já um outro estudo, utilizando ratos Wistar, ambos os sexos, com 4 e 20 semanas de idade, que beberam

constantemente dialquilnitrosamina em diversas concentrações, mostrou que a dose mínima carcinogênica, tanto de DENA como de DMNA, era de 132 ppm para os machos e 246 ppm para as fêmeas [46].

Ratos F-344 machos, pesando em média 170 g, após ingerir DENA, 0,55 mg/dia, durante 12 ou 23 semanas, desenvolveram carcinomas hepatocelulares pouco diferenciados, respectivamente, a partir da 16ª e da 20ª semanas, em 67% e 56% dos animais. Com DMNA, 0,4 mg/dia durante 24 semanas, foi induzido o mesmo tipo de tumor em 29% dos animais, a partir da 28ª semana [51].

A administração de DENA durante 10 semanas, 40 ppm na água de beber, a ratos F-344 machos com quatro semanas de idade, determinou carcinoma hepatocelular em 100% dos animais que sobreviveram por mais 10 semanas, e 40% destes apresentavam metástase pulmonar. Com a redução do tratamento para quatro semanas, seguida de 16 semanas de latência, só 13% dos animais apresentaram neoplasia hepática [52].

O mesmo protocolo experimental aplicado durante cinco semanas a ratos Fisher machos, pesando 100 a 130 g, determinou múltiplas neoplasias hepáticas em 55% dos animais, após 25 semanas de latência, e com a redução para três semanas de tratamento não houve desenvolvimento de neoplasias, mesmo prolongando o período de observação até 47 semanas [53].

Já 2 mg de DENA injetadas i.p., em ratos Donryu com 21 dias de idade, só determinaram carcinoma hepatocelular bem diferenciado em 40% dos animais após 48 semanas de latência vs. 0 após 36 semanas; quando administrada na água de beber na concentração de 0,01% durante uma semana, 100% dos animais desenvolveram múltiplas neoplasias hepáticas após 36 semanas [54].

Em ratos Wistar machos, com 28 dias de idade, a ingestão de DENA, 50 ppm na água de beber, durante duas semanas, não teve efeito hepatocarcinogênico no período de um ano [55]. Ratos F-344 machos, com seis semanas de idade, que receberam DENA, 25 ppm por via oral, durante 24 semanas, também não desenvolveram neoplasias hepáticas, porém apresentaram focos de hepatócitos fenotipicamente alterados [56]. Da mesma forma, uma dose única de DMNA 15 mg/kg p.c. por via intraperitoneal, injetada em ratos Wistar machos, pesando entre 120 e 140 g, não induziu neoplasias hepáticas num período de 16 meses [57].

A ingestão de DBNA 0,05% na água de beber, associada a antioxidantes na ração, BHT 0,7% ou BHA 2%, durante 16 semanas, determinou carcinomas hepatocelulares em ratos F-344 machos, com seis semanas de idade ao início do experimento [28].

Várias dialquilnitrosaminas administradas a ratos, por via oral, durante 30 semanas, mostraram um or-

ganotropismo diverso. Assim, a DMNA, 1,3 mmol, determinou tumores hepáticos, incluindo carcinomas hepatocelulares, hemangiossarcomas e colangiocarcinomas; já DENA, 0,5 mmol, induziu neoplasias do trato gastrointestinal alto, além das neoplasias hepáticas, e a DBNA, 2,0 mmol, desenvolveu tumores vesicais e pulmonares. Os períodos de latência, bem como a potência relativa, diferiam em cada caso, sendo respectivamente $DMNA < DENA < DBNA$ e $DENA > DMNA > DBNA$ [10].

Em outra experiência, a DBNA, 0,25%, 0,125% e 0,063%, administrada durante duas semanas, na água de beber, a ratos F-344 machos com seis semanas de idade, só não determinou hepatocarcinomas na menor dosagem. Lesões vesicais pré-neoplásicas - hiperplasia nodular/papilar - e neoplasias benignas - papilomas - foram mais frequentes com as doses mais elevadas. Já hiperplasia e papilomas induzidos no esôfago e estômago anterior não mostraram dose-dependência [49].

Em camundongos DBA, ambos os sexos, com 3 a 4 meses de idade, foi descrita a indução de hemangioendoteliossarcoma hepático, com metástase pulmonar, após 180 dias de administração oral diária de DENA, 13 mg/kg p.c. [37, 58].

Já em camundongos NMRI, com quatro semanas de idade, a ingestão de DENA, 0,007% (240 mg/kg), induziu, após 20 semanas, hemangioendoteliossarcomas hepáticos com metástase pulmonar, carcinomas hepatocelulares e carcinomas papilíferos primitivos de estômago anterior, pulmões e glândulas salivares [59].

Em camundongos machos de diversas linhagens, com oito semanas de idade, foi estudada a indução tumoral mediante dialquilnitrosaminas em diversas doses. A DMNA, 50, 100 e 200 ppm, foi administrada na dieta durante 5 ou 10 meses; a linhagem C3H mostrou-se mais sensível, desenvolvendo um maior número de neoplasias, em ordem de frequência: adenomas pulmonares, adenomas hepáticos, carcinomas hepatocelulares e cistoadenoma papilífero renal; a maior incidência foi de adenomas pulmonares em todas as linhagens, seguida de carcinomas pulmonares e hemangioendoteliossarcomas hepáticos nas linhagens ddN e ICR. Em dose elevada, a linhagem ddN desenvolveu também leucemias, seminomas e carcinoma renal, exibindo maior diversidade organotrópica, porém nesta experiência não foi referida a incidência natural de neoplasias nas linhagens ICR e ddN. Com DENA, 0,042 mg/ml, na água de beber, durante 5 ou 6,6 meses, as linhagens C3H e ICR desenvolveram adenomas hepáticos e papilomas no estômago anterior; novamente a linhagem C3H mostrou-se mais sensível à droga, porém a linhagem ICR teve maior diversidade organotrópica ao exibir

também adenomas pulmonares e hemangioendoteliossarcoma hepático [38].

Outras linhagens de camundongos, machos com dois meses de idade, que receberam dose única intragástrica de dialquilnitrosaminas, 60 mg/kg p.c., mostraram susceptibilidade e organotropismo diversos, num período de 10 meses de observação. A linhagem BTO desenvolveu lesões no estômago anterior, papilomas e carcinomas, em 8% dos animais tratados com DBNA e em 4% dos que receberam DENA; adenocarcinomas de cólon ou duodeno ocorreram em 18% dos camundongos C57Bl/60 tratados com DBNA; houve alta incidência de hepatomas na linhagem BTO, 18% com DBNA e 29% com DENA, mas só 9% com DBNA na linhagem C57Bl/60; camundongos BTO também desenvolveram adenomas pulmonares quando tratados com DENA, em 29% dos casos [42].

Mais três linhagens de camundongos, ambos os sexos com oito semanas de idade, tratados com DENA, 90 mg/kg p.c. por via intraperitoneal, desenvolveram tumores pulmonares e hepáticos, além de leucemia, após 24 semanas de latência. A linhagem AKR/J teve uma alta incidência de adenomas pulmonares, 24% vs. 0 no controle, já a linhagem C57Bl/60 desenvolveu maior número de hepatomas, 33% vs. 0 no controle; a linhagem SWR/J também desenvolveu neoplasias pulmonares hepáticas, e leucemia, porém não houve diferença significativa em relação ao controle [44].

Organotropismos pulmonar e hepático da DENA também foram registrados em camundongos ICR suíços, neonatos, que receberam uma única dose de DENA, 50 mg/kg p.c. por via subcutânea. Num período de até seis meses de observação, a maioria dos camundongos desenvolveu hepatomas, e a incidência de adenomas pulmonares aumentou para 80% vs. 4% no controle [60].

O efeito modificador de idade, sexo e linhagem na carcinogênese por DENA também foi demonstrado em camundongos híbridos de C57Bl/65xC3HeB/FeJ₁ (B6C3F₁) e C3HeB/FeJxA/JF₁ (C3AF₁). Cada animal recebeu quatro injeções i.p. de DENA, 1,5 ou 3,0 mg/kg p.c.; a primeira dose foi administrada nos animais com 1, 15 ou 42 dias de vida, e as doses subseqüentes com intervalos de 3, 6 e 9 dias. Os camundongos foram observados a vida toda, registrando-se, em ordem de frequência, tumores hepáticos, pulmonares e gástricos; predominavam no fígado os carcinomas hepatocelulares. Animais neonatos e jovens desenvolveram maior número de tumores hepáticos, v.s. animais adultos; as fêmeas v.s. os machos apresentaram tumores hepáticos mais tarde (B6C3₁) e com menor incidência (C3AF₁). Os híbridos B6C3F₁ vs. C3AF₁ desenvolveram maior número de carcinomas hepatocelulares, com taxa mais alta de

metástases pulmonares, porém os camundongos C3AF₁ tiveram maior incidência de neoplasias pulmonares, predominando os adenomas, bem como, do estômago anterior, papilomas e carcinomas; neste último órgão a incidência de neoplasias aumentou significativamente em função da dose de DENA [47]. Resumindo, camundongos machos, neonatos e jovens da linhagem B6C3F₁ apresentam condições mais favoráveis ao desenvolvimento de neoplasias hepáticas pela DENA, ao passo que a linhagem C3AF₁ é mais favorável ao desenvolvimento de neoplasias pulmonares e gástricas [47].

O efeito dose-dependente das dialquilnitrosaminas também foi estudado em camundongos RF machos, que foram observados a vida toda após uma única injeção i.p. de DMNA, 5, 10 e 15 mg/kg, e de DENA, 150 e 175 mg/kg. A DMNA, nas dosagens mais altas, aumentou a incidência de neoplasias pulmonares - adenomas e carcinomas papilíferos - mas não induziu neoplasias hepáticas. Já a DENA, em ambas as dosagens, determinou hepatomas, aumentou a incidência de neoplasias pulmonares - adenomas - e muito mais a de neoplasias gástricas - papilomas e carcinomas de células escamosas - e na dosagem mais alta foi registrada uma incidência de 55% de tumor de células de Leydig vs. 2% no controle [41].

A DMNA, 30 mg, administrada por via intraperitoneal a camundongos DDD, ambos os sexos, com 21 dias de idade, determinou adenomas pulmonares - 66,5% - e adenomas hepáticos - 33,5% - em 16 semanas de observação, sem registrar-se diferenças na incidência por sexo [45].

A diversa susceptibilidade ao efeito hepatocarcinogênico da DENA, dependente da linhagem, também foi demonstrada entre camundongos machos C57Bl/6Ncr (C57), C3H/HeNcr^{MTV} (C3H) e DBA/2Ncr (DBA), que com cinco semanas de idade foram injetados i.p. com DENA, 90 mg/kg p.c. A linhagem C3H desenvolveu adenomas hepáticos em menor período de latência, 24 semanas; às 36 semanas, período de latência das outras duas linhagens, a C3H apresentava maior percentual de incidência de adenomas, 50% vs. 10%; até às 52 semanas a multiplicidade de adenomas era também mais elevada na linhagem C3H, e esta foi a única a desenvolver carcinomas hepatocelulares [48].

Uma única injeção i.p. de DENA, 25 mg/kg p.c., em camundongos machos, BALB/c e B6C3F₁, com 15 dias de idade, demonstrou maior susceptibilidade por parte da linhagem B6C3F₁, que, em 28 semanas, desenvolveu múltiplos adenomas hepáticos em 100% dos animais vs. 66% nos BALB/c, e carcinomas hepatocelulares em 30% vs. 0 nos BALB/c [61].

A hepatocarcinogenicidade de diversas doses de DENA, 0,625, 1,25, 2,5 e 5 mg/kg p.c., administradas

uma única vez por via intraperitoneal a camundongos híbridos C57Bl/6JxC3HeFeJF₁ machos, com 15 dias de idade, foi determinada em função do período de sobrevivência determinado, 40 a 90 semanas. Independente da dose, todos os animais desenvolveram carcinomas hepatocelulares; contudo, o período de latência foi inversamente proporcional à dose, sendo em média 66 semanas com a dose mais baixa e 44 com a mais alta. A multiplicidade dos nódulos - carcinomas hepatocelulares - às 50 semanas foi dose-dependente [62]. O mesmo protocolo experimental, injeção i.p. de DENA, 5 mg/kg p.c., no mesmo modelo animal, determinou carcinomas hepatocelulares trabeculares após 44 semanas de latência [33].

Já a injeção i.p. de DENA, 80 mg/kg p.c., na mesma linhagem e sexo referidos acima, porém administrada aos camundongos com quatro semanas de idade, não induziu tumores hepatocelulares até os seis meses de observação, mas foi registrada uma baixa incidência de focos de hepatócitos fenotipicamente alterados [63].

A ingestão de DENA, 15 ou 45 ppm na água de beber, durante quatro semanas, em camundongos B6C3F₁ machos, com seis semanas de idade, determinou, após 44 semanas, múltiplos adenomas hepáticos e carcinomas hepatocelulares. Os percentuais de incidência foram dose-dependentes, respectivamente para cada tipo de tumor, 65% e 30% com a maior dosagem e 25% e 13% com a menor [61].

O fígado também tem sido referido como o principal órgão-alvo dos compostos N-nitrosos em cobaias. Dependendo do composto utilizado, foram descritos carcinomas hepatocelulares, hemangiossarcomas ou colangiocarcinomas [10]. Da mesma forma, foi registrada em cobaias a indução de carcinomas hepatocelulares, com metástases ganglionar e esplênica, após ingestão diária de DENA, 3 mg/kg p.c., totalizando 1.200 mg/kg p.c. [37].

Em cobaias machos, pesando 240 a 290 g, que receberam DENA por via oral, 1,1 a 4,2 mg/dia, durante um período de até 40 semanas, ocorreram carcinomas hepatocelulares a partir da 16ª semana; predominava nestes o padrão trabecular e houve metástase para omento, linfonodos, pulmões, rins e adrenais. Papilomas brônquicos e adenomas bronquiolares surgiram a partir da 44ª semana. Um adenocarcinoma vesical também foi referido, porém nesta experiência não foi determinada a incidência natural de neoplasia na espécie [35].

Já a administração intragástrica de DENA, 0,4 ml de solução 1:250, bi-semanal, durante 7 meses, em hamster sírio, ambos os sexos, com dois a três meses e meio de idade, determinou papilomas traqueais, em todos os animais, e uma alta incidência de carcinomas hepatocelulares, padrão trabecular, com múltiplas metástases, seguida de carcinomas indiferen-

ciados de cavidade nasal, lesões proliferativas renais e papilomas brônquicos. Ao mudar a via de inoculação para instilação intra-traqueal, 0,05 ml de solução de DENA 1:14, uma vez por semana, durante seis meses, todos os animais desenvolveram papilomas traqueais e foi alta também a incidência de papilomas brônquicos, seguida de neoplasias de cavidade nasal, porém não houve neoplasias hepáticas nem lesões renais [36].

Por via transplacentária, em hamster sírio dourado, a DENA 2 mg/dia, num total de uma a sete doses a partir do nono dia de gestação, determinou, nas crias, papiloma traqueal a partir da 8ª semana de vida, e na 25ª semana essas neoplasias eram múltiplas em 42% das crias; as mães também desenvolveram múltiplos papilomas traqueais em 73% dos casos, no mesmo período de observação [39].

A DENA administrada por via parenteral também mostrou organotropismo pelo trato respiratório em hamsters sírio e europeu, mas não no hamster chinês, onde a DENA por via subcutânea só afetou o trato gastrointestinal alto [5].

Em hamster sírio, tanto a DMNA, 0,2 mmol durante 20 semanas, como a DENA 0,5 mmol por 25 semanas, administradas por via oral na ração, induziram neoplasias hepáticas, sendo que a DENA mostrou maior potência tumorigênica, porém período de latência mais longo. Já a DBNA, 2,0 mmol durante 30 semanas, determinou neoplasias vesicais e pulmonares após longo período de latência [10].

Em gerbils de ambos os sexos, com 8 a 12 semanas de idade, injeções s.c. semanais de DENA, 6, 12 ou 24 mg/kg p.c., induziram uma alta incidência de carcinomas multifocais de cavidade nasal, 66% a 79%, dose-dependente. O padrão histológico predominante era carcinoma de grandes células, seguido do de pequenas células e do escamoso [64]. O mesmo protocolo induziu também carcinomas colangiocelulares e hepatocelulares, 22% a 85%, dose-dependentes, bem como papilomas do trato traqueobrônquico, adenomas e carcinomas pulmonares. De um modo geral, os machos foram mais susceptíveis à dialquilnitrosamina [43].

No mesmo modelo animal, porém só em machos, ao mudar-se o tratamento para injeção i.v. única de DENA, 50 ou 100 mg/kg p.c., a incidência de carcinomas multifocais de cavidade nasal aumentou para 89% e 100%, e a de carcinomas hepáticos diminuiu para 11% e 33% [43, 64].

Em outra experiência realizada em gerbils de ambos os sexos, administrando-se semanalmente DENA, 23 mg/kg p.c. por via subcutânea, houve maior organotropismo pelo trato respiratório nos machos; foram constatados adenocarcinomas de cavidade nasal, 95% vs. 63% nas fêmeas, e neoplasias pulmo-

nares, 20% vs. 5% nas fêmeas. Porém a alta incidência de colangiocarcinomas foi semelhante em ambos os sexos, 85% nos machos e 84% nas fêmeas [65].

A experimentação animal tem permitido estabelecer a carcinogenicidade de diversos agentes químicos, entre eles as dialquilnitrosaminas. A avaliação de carcinogenicidade envolve uma série de testes em diversas espécies animais, geralmente camundongo, rato e hamster. Os protocolos experimentais consistem em administração crônica do agente químico a animais jovens, por diversas vias, em diversas doses, a vida toda ou durante 18 a 24 meses, dependendo da espécie animal. Em geral, os sistemas animais predizem o que aconteceria no homem, exposto de uma determinada forma, na qual a dose e o tempo de exposição ao cancerígeno são elementos críticos. Portanto, o mecanismo envolvido na produção experimental de tumores deve sempre ser considerado, cuidadosamente, na interpretação do potencial cancerígeno de uma determinada substância química para o homem.

Contudo, além das numerosas evidências experimentais da carcinogenicidade das dialquilnitrosaminas aqui apresentadas, existem também dados epidemiológicos que permitem levantar hipóteses quanto à etiologia de determinadas neoplasias humanas. Assim, a alta incidência de câncer gástrico em determinadas populações (o Japão, por exemplo), e a queda dessa incidência nos japoneses e seus descendentes, após a migração para áreas com baixa frequência dessa neoplasia, como os EUA, têm sugerido a interferência de hábitos alimentares no desenvolvimento de câncer gástrico. Trata-se, provavelmente, da ingestão de nitratos/nitritos presentes na dieta, com geração subsequente de nitrosaminas *in vivo*. As nitrosaminas também parecem responsáveis pela alta incidência de câncer de esôfago, registrada na África, entre os indivíduos do povo banto, que costumam ingerir vegetais e bebidas ricas nestes compostos N-nitroso.

Key words: nitrosamine and cancer

Referências bibliográficas

1. REDDY BS, COHEN LA, McCOY GD, HILL P, WEISBURGER JH, WYNDER EL. Nutrition and its relationship to cancer. *Adv Cancer Res* 1980; 32: 237-345.
2. WEISBURGER JH, WILLIAMS GM. Etiology of cancer. *Chemical carcinogenesis*. In: HOLLAND JF, FREI III E. *Cancer Medicine*. Philadelphia: Lea & Febiger 1982: 42-95.
3. SCHMÄHL D, OSSWALD H. Carcinogenesis in different animals species by diethylnitrosamine. *Experientia* 1967; 23: 497-498.
4. WOGAN G. The induction of liver cell cancer by chemicals. In: CAMERON HM, LINSELL DA, WARWICK GP eds. *Liver Cell Can-*

- cer. Amsterdam: Elsevier 1976: 121-152.
5. IARC-WHO. N-nitrosodiethylamine. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans 1978; (17): 83-124.
 6. MARGISON GP, O'CONNOR PJ. Nucleic acid modification by N-nitroso compounds. In: GROVER PL, ed. Chemical Carcinogens and DNA. Vol I, 2nd ed., Boca Raton, Florida: CRC Press 1980: 111-159.
 7. UDASHIMA S. Overview: N-nitroso compounds as carcinogens for experimental animals and man. *Oncology* 1980; 37: 282-286.
 8. PURCHASE I FH. Inter-species comparisons of carcinogenicity. *Br J Cancer* 1980; 41: 454-A68.
 9. DE PAOLA D. Câncer e Meio Ambiente. Rio de Janeiro: Medsi 1985: 54.
 10. LIJINSKY W. Species differences in nitrosamine carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1984; 108: 46-55.
 11. CULVENOR CCJ, JAGO MV. Carcinogenic plant products and DNA. In: GROVER PL ed. Chemical Carcinogens and DNA. Vol I, 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press 1980: 161-186.
 12. Mc CORMICK A, NICHOLSON MJ, BAYLIS MA, UNDERWOOD JG. Nitrosamine in cigarette smoke condensate. *Nature* 1973; 244: 237-38.
 13. SELKIRK JK. Chemical carcinogenesis: a brief overview of the mechanism of action of polycyclic hydrocarbons, aromatic amines, nitrosamines, and aflatoxins. In: SLAGA TJ ed. Modifiers of Chemical Carcinogenesis. New York: Raven Press 1980: 1-31.
 14. WEISBURGER EK. Metabolism and activation of chemical carcinogens. *Molec Cell Biochem* 1980; 32: 95-104.
 15. MIRVISH SS, BULAYO O, RUNGE R, PATIL K. Study of the carcinogenicity of large doses of dimethylnitramine, N-nitroso-L-proline, and sodium nitrite administered in drinking water to rats. *JNCI* 1980; 64: 1435-1442.
 16. FINE DH, ROSS R, ROUNBEHLER DP, SILVERGLEID A, SONG L. Formation *in vivo* of volatile N-nitrosamines in man after ingestion of cooked bacon and spinach. *Nature* 1977; 265:753-75.
 17. ZEISEL SH, DA COSTA K. Increase in human exposure to methylamine precursors of N-nitrosamines after eating fish. *Cancer Res* 1986; 46: 6136-138.
 18. HEATH DF. The decomposition and toxicity of dialkyl nitrosamines in rats. *Biochem J* 1962; 85: 72-91.
 19. BRITTEBBO EB, LÖFBERG B, TJÄLVE H. Sites of metabolism of N-nitrosodiethylamine in mice. *Chem-Biol Interact* 1981; 34: 209-221.
 20. MAGEE PN, FARBER E. Toxic liver injury and carcinogenesis. Methylation of rat-liver nucleic acids by dimethylnitrosamine *in vivo*. *Biochem J* 1962; 83: 114-124.
 21. MAGEE PN, HULTIN T. Toxic liver injury and carcinogenesis. Methylation of proteins of rat-liver slices by dimethylnitrosamine *in vitro*. *Biochem J* 1962; 83: 106-114.
 22. MAGEE PN, LEE KY. Cellular injury and carcinogenesis. Alkylation of ribonucleic acid of rat liver by diethylnitrosamine and n-butylmethyl nitrosamine *in vivo*. *Biochem J* 1964; 91: 35-42.
 23. SWANN PF, MAGEE PN. Nitrosamine-induced carcinogenesis. The alkylation of N-7 of guanine of nucleic acids of the rat by diethylnitrosamine, N-ethyl-N-nitrosourea and ethyl-methanesulphonate. *Biochem J* 1971; 125: 841-847.
 24. CRADDOCK VM. Cell proliferation and experimental liver cancer. In: CAMERON HM, LINSELL DA, WARWICK GP, eds. Liver Cell Cancer. Amsterdam: Elsevier 1976: 153-201.
 25. WILLIAMS GM. The pathogenesis of rat liver cancer caused by chemical carcinogens. *Biochem Biophys Acta* 1980; 605: 167-189.
 26. RABES HM. Development and growth of early preneoplastic lesions induced in the liver by chemical carcinogens. *J Cancer Res Clin Oncol* 1983; 106: 85-92.
 27. PARTHASARATHY R, FRIDEY SM. Conformation of O⁶-alkylguaninoides: molecular mechanism of mutagenesis. *Carcinogenesis* 1986; 7: 221-227.
 28. FUNATO T, YOKOTA J, SAKAMOTO H et al. Activation of N-ras gene in a rat hepatocellular carcinoma induced by dibutyl nitrosamine and butylated hydroxytoluene. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 1987; 78: 689-94.
 29. FARBER E. The pathology of experimental liver cell cancer. In: CAMERON HM, LINSELL DA, WARWICK GP eds. Liver Cell Cancer. Amsterdam: Elsevier 1976: 243-277.
 30. RABES H, HARTENSTEIN R, SCHOLZE P. Specific stages of cellular response to homeostatic control during diethylnitrosamine-induced liver carcinogenesis. *Experientia* 1970; 26: 1356-1359.
 31. PITOT HC. The natural history of neoplasia. Newer insights into an old problem. *Am J Pathol* 1977; 89: 402-411.
 32. SOLT D, FARBER E. New principle for the analysis of chemical carcinogenesis. *Nature* 1976; 263: 701-703.
 33. KOEN H, PUGH TD, GOLDFARB S. Hepatocarcinogenesis in the mouse. Combined morphologic-stereologic studies. *Am J Pathol* 1983; 112: 89-100.
 34. PERAINO C, CARNES BA, STEVENS FJ. Evidence for growth heterogeneity among foci with different phenotypes in the population of altered hepatocyte foci induced by a single neonatal treatment with carcinogen. *Carcinogenesis* 1986; 7: 191-192.
 35. ARGUS MF, HOCH-LIGETI C. Induction of malignant tumors in the guinea pig by oral administration of diethylnitrosamine. *JNCI* 1963; 30: 533-551.
 36. HERROLD KM, DUNHAM LJ. Induction of tumors in the syrian hamster with diethylnitrosamine (N-nitrosodiethylamine). *Cancer Res* 1963; 23: 773-777.
 37. THOMAS C, SCHMÄHL D. The morphology of diethylnitrosamine induced hepatic tumors in the mouse guinea pig. *Z Krebsforsch* 1963; 65: 531-536.
 38. TAKAYAMA S, OOTA K. Induction of malignant tumors in various strains of mice by oral administration of N-nitrosodimethylamine and N-nitrosodiethylamine. *GANN* 1965; 56: 189-199.
 39. MOHR U, ALTHOFF J, AUTHALER A. Diaplacental effect of the carcinogen diethylnitrosamine in the golden hamster. *Cancer Res* 1966; 26: 2349-2352.
 40. REUBER MD, LEE CW. Effect of age and sex on hepatic lesions in Buffalo strain rats ingesting diethylnitrosamine. *JNCI* 1968; 41: 1133-1140.
 41. CLAPP NK. Carcinogenicity of nitrosamines and methane-sulphonate esters given intraperitoneally, in RF mice. *Int J Cancer* 1973; 12: 728-733.
 42. AKAMATSU Y. Carcinogenicity of N-nitrosodiethylamine (DEN), N-nitrosodi-N-butylamine (DBN), and N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNG) in strains of mice: single intragastric treatment of 10 times maximum tolerated dose (MTD). *Proc Amer Ass Cancer Res* 1975; 16: 162.

43. HAAS H, KMOCH N, MOHR U. Susceptibility of gerbils (*Meriones unguiculatus*) to weekly subcutaneous and single intravenous injections of N-diethylnitrosamine. *Z Krebsforsch* 1975; 83: 233-238.
44. DIWAN BA, MEIER H. Carcinogenic effects of a single dose of diethylnitrosamine in three unrelated strains of mice: genetic dependence of the induced tumor types and incidence. *Cancer Lett* 1976; 1: 249-253.
45. UCHIDA E, HIRONO I. Effect of phenobarbital on induction of liver and lung tumors by dimethylnitrosamine in newborn mice. *GANN* 1979; 70: 639-644.
46. CRAMPTON RF. Carcinogenic dose-related response to nitrosamines. *Oncology* 1980; 37: 251-254.
47. VESSELINOVITCH SD, KOKA M, MIHAILOVICH N, RAO KVN. Carcinogenicity of diethylnitrosamine in newborn, infant, and adult mice. *J Cancer Res Clin Oncol* 1984; 108: 60-65.
48. DIWAN BA, RICE JM, OHSHIMA M, WARD JM. Interstrain differences in susceptibility to liver carcinogenesis initiated by N-nitrosodiethylamine and its promotion by phenobarbital in C57Bl/6Ncr, C3H/HeNcr^{MTV} and DBA/2Ncr. *Carcinogenesis* 1986; 7: 215-220.
49. TSUDA H, MERA Y, SEKI K, AOKI T, FUKUSHIMAS, ITO N. Induction of tumors in the liver, urinary bladder, esophagus and forestomach by short-term treatment with different doses of N,N'dibutylnitrosamine in rats. *Jpn J Cancer Res (Gann)* 1987; 78: 227-234.
50. THOMAS C. Zur morphologie der durch Diäthylnitrosamin erzeugten Leberveränderungen und Tumoren bei der Ratte. *Z Krebsforsch* 1961; 64: 224-233.
51. SVOBODA D, HIGGINSON J. A comparison of ultrastructural changes in rat liver due to chemical carcinogens. *Cancer Res* 1968; 28: 1703-1733.
52. WEISBURGER JH, MADISON RM, WARD JM, VIGUERA C, WEISBURGER EK. Modification of diethylnitrosamine liver carcinogenesis with phenobarbital but not with immunosuppression. *JNCI* 1975; 54: 1185-1188.
53. MOCHIZUKI Y, FURUKAWA K, SAWADA N, GOTOH M. Dose-dependent enhancing effect of phenobarbital on hepatocarcinogenesis initiated by diethylnitrosamine in the rat. *GANN* 1981; 72: 170-173.
54. KITAGAWA T, SUGANO H. Enhancing effect of phenobarbital on the development of enzyme-altered islands and hepatocellular carcinomas initiated by 3'-methyl-4-(dimethylamino)azobenzene or diethylnitrosamine. *GANN* 1978; 69: 679-687.
55. NISHIZUMI M. Effect of phenobarbital, dichlorodiphenyltrichloroethane, and polychlorinated biphenyls on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis. *GANN* 1979; 70: 835-837.
56. WILLIAMS GM, FURUYA K. Distinction between liver neoplasm promoting and syncarcinogenic effects demonstrated by exposure to phenobarbital or diethylnitrosamine either before or after N-2-fluorenylacetamide. *Carcinogenesis* 1984; 5: 171-174.
57. Mc LEAN AEM, SMITH M, DRIVER HE. Liver tumours after single dose dimethylnitrosamine, low and high protein diet, and phenobarbitone. *Carcinogenesis* 1982; 3: 701-709.
58. SCHMÄHL D, THOMAS C, KÖNIG K. Versuche zur Krebszeugung mit Diäthylnitrosamin by Mäusen. *Naturwissenschaften* 1963; 50: 407.
59. KUNZ W, SCHAUDE G, THOMAS C. The effect of phenobarbital and halogenated hydrocarbons on nitrosamine carcinogenesis. *Z Krebsforsch* 1969; 72: 291-304.
60. GARGUS JL, PAYNTER OE, REESE Jr WH. Utilization of newborn mice in the bioassay of chemical carcinogens. *Toxicol Appl Pharmacol* 1969; 15: 552-559.
61. PEREIRA MA, KLAUNIG JE, HERREN-FREUND SL, RUCH RJ. Effect of phenobarbital on the development of liver tumors in juvenile and adult mice. *JNCI* 1986; 77: 449-452.
62. VESSELINOVITCH SD. Infant mouse as a sensitive bioassay system for carcinogenicity of N-nitroso compounds. *IARC Sci Publ* 1980; (31): 645-655.
63. WARD JM, RICE JM, CREASIA D, LYNCH P, RIGGS C. Dissimilar patterns of promotion by di(2-ethylhexyl)phtalate and phenobarbital of hepatocellular neoplasia initiated by diethylnitrosamine in B6C3F₁ mice. *Carcinogenesis* 1983; 4: 1021-1029.
64. CARDESA A, POUR P, HAAS H, ALTHOFF J, MOHR U. Histogenesis of tumors from the nasal cavities induced by diethylnitrosamine. *Cancer* 1976; 37: 346-355.
65. GREEN U, KETKAR M. The influence of diazepam and thiouracil upon the carcinogenic effect of diethylnitrosamine in gerbils. *Z Krebsforsch* 1978; 92: 55-62.

Citopunção mamária por capilaridade. Técnica e análise da eficácia do método

DEANA LOPES POMPEU, ANA LUIZA RIOS SANCHEZ, MAURÍCIO BEZERRA CARIELLO, GUILLERMO ORTEGA JÁCOME, JOSÉ RIBEIRO FILHO, FERNANDO MIRANDA HENRIQUES, RÉGIS SALES AZEVEDO

Resumo

Entre janeiro de 1986 e dezembro de 1987, na Unidade de Mastologia do Hospital de Base do Distrito Federal, foram realizadas 525 citopunções por capilaridade, das quais 243 tiveram comprovação histopatológica através de forage e/ou peça operatória.

A técnica utilizada consiste em puncionar a área suspeita com agulha calibre 25 x 0,6 mm ou 25 x 0,7 mm, em várias direções, a fim de obter material por capilaridade sem aspiração.

Dos 243 casos com comprovação histopatológica, em 29 (12%) o material foi insuficiente, restando 214 casos satisfatórios para diagnóstico.

A sensibilidade total nos 214 casos foi de 97%, sendo a especificidade 100% e o valor preditivo também de 100%. Não tivemos resultados falso-positivos.

Em relação ao tamanho de tumores malignos, a sensibilidade foi de 95% nos tumores menores que 2,5 cm; 94% entre 2,5 cm e 5,0 cm e 100% nos maiores de 5 cm.

A sensibilidade do método relacionou-se com as características do tumor, a técnica utilizada e a experiência do citopatologista.

Com a citopunção sem aspiração, observamos uma menor distorção celular e menos esfregaços hemorrágicos, quando em comparação com a citopunção aspirativa.

É uma técnica simples, inócua e barata, mas que exige treinamento e sensibilidade táctil para obtermos bons resultados.

Unitermos: diagnóstico por citopunção

Introdução

O estudo citológico de tumores por punção com agulha fina é um método diagnóstico cujo interesse foi demonstrado por Pawlovsky, Martin e Ellis há 50 anos [8, 11, 13, 14].

Muitos clínicos e citopatologistas ficam reticentes diante da possibilidade do diagnóstico citológico de tumores por punção com agulha fina, mas a literatura tem sido enriquecida nos últimos 20 anos com trabalhos de Zajdela [11, 14], Rosen [8], Kreuzer e Zajicek [13], mostrando a eficácia do método.

No Institut Curie, em Paris, a citopunção é feita há 30 anos, sendo que nos últimos quatro anos têm-se obtido ótimos resultados pelo uso da técnica sem aspiração. O professor Zajdela observou que na punção sem aspiração as células sobem na agulha por fenômeno de capilaridade, associado à pressão que se faz com os dedos indicador e médio sobre o tumor.

Durante a punção, o bisel da agulha corta o tecido, facilitando a penetração de verdadeiros blocos celulares.

A partir de janeiro de 1986, introduzimos no Serviço de Mastologia do Hospital de Base do Distrito Federal a citopunção com agulha fina sem aspiração, como rotina complementar no diagnóstico de tumores mamários.

O presente trabalho tem como objetivo descrever a técnica de citopunção por capilaridade, enfatizando a experiência do médico que executa o exame e analisando a sensibilidade e especificidade do método.

Universo e amostragem

No período entre janeiro de 1986 e dezembro de 1987, no Serviço de Mastologia do Hospital de Base do Distrito Federal, foram submetidas à citopunção

sem aspiração 525 pacientes com nódulos clinicamente palpáveis.

Analisamos os resultados de 243 citopunções sem aspiração que tiveram comprovação histopatológica através de *forage (drill biopsy)* e/ou peça operatória.

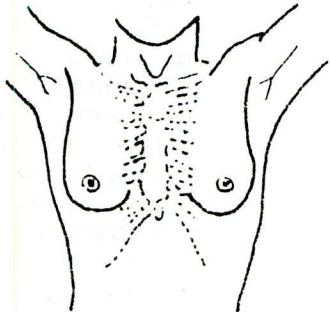
A idade das pacientes variou entre 18 e 82 anos. Do grupo estudado, um dos pacientes era do sexo masculino, portador de ginecomastia.

A citopunção foi utilizada nestas pacientes como parte de um tripé diagnóstico que incluiu exame clínico cuidadoso, mamografia em algumas pacientes e biópsia-*forage* nos casos suspeitos.

macroscópico do esfregaço (Figura 1). Estes dados facilitam a interpretação do citologista, pois sabemos que em citologia mamária os índices de falha são maiores quando a colheita não é feita pelo próprio citologista.

Técnica de citopunção por capilaridade

Após assepsia da região a ser puncionada, procedemos à fixação do tumor entre os dedos indicador e médio (Figura 2). Não é necessária anestesia local. Com um movimento rápido, introduzimos uma agulha

GDF - SECRETARIA DE SAÚDE FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO DISTRITO FEDERAL Hospital de Base do Distrito Federal Unidade de Mastologia - HBDF	
REGISTRO Nº NOME: DATA:	REG. IDADE:
CARACTERÍSTICAS DA TUMORAÇÃO: LOCALIZAÇÃO: TEMPO DE EVOLUÇÃO: IMPRESSÃO CLÍNICA: LAUDO RADIOLÓGICO: TRATAMENTOS: CIRÚRGICO: QUIMIOTERÁPICO: RADIOTERÁPICO:	
IMPRESSÃO DIAGNÓSTICA À CITOPUNÇÃO: a) TÉCNICA:	ASSINATURA E CARIMBO DO MÉDICO
b) CISTO: SEROSO HEMORRÁGICO PURULENTO	CELULARIDADE ESCASSA: REGULAR: AUMENTADA:
c) TU BENIGNO: DISPLASIA: CARCINOMA: DERRAME PAPILAR: MASTITE: GÂNGLIO: BENIGNO: MALIGNO:	ASSINATURA E CARIMBO DO MÉDICO
DATA	ASSINATURA E CARIMBO DO MÉDICO

Material e Método

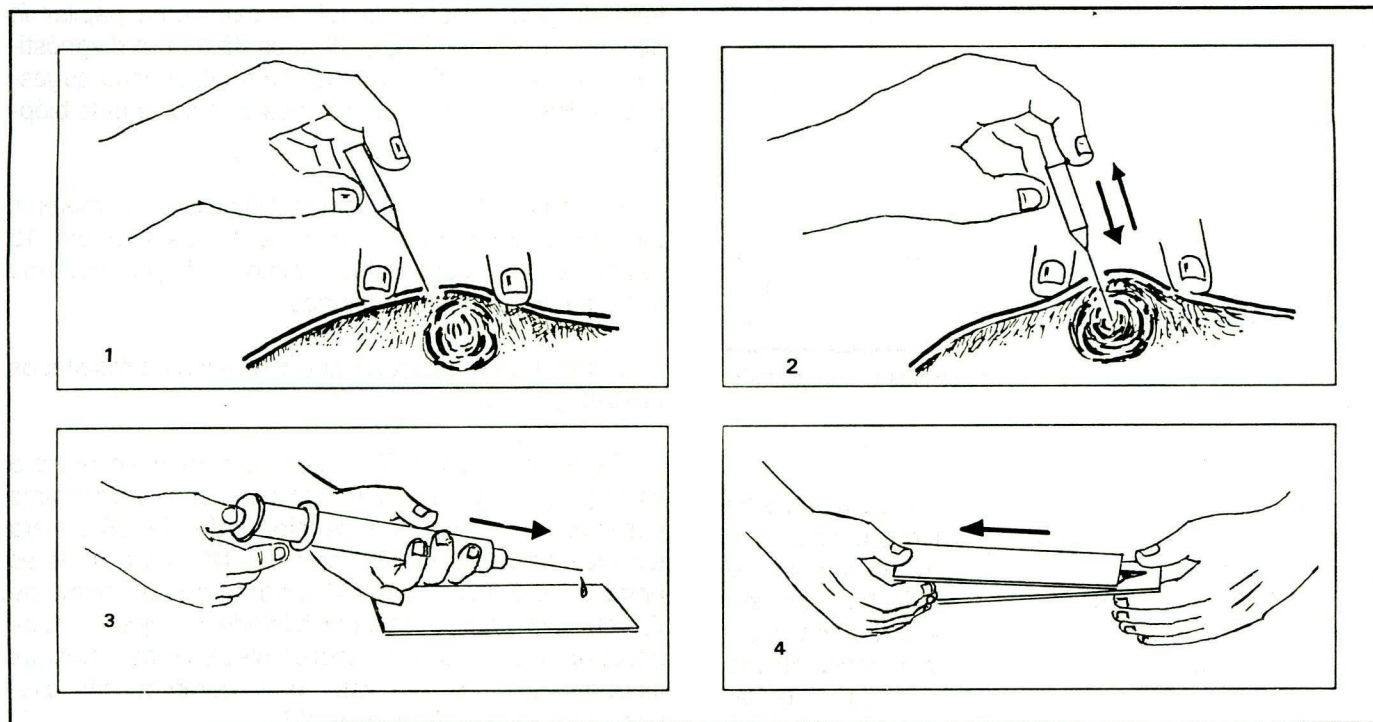
Elaboramos uma ficha onde são anotadas as características da tumoração, diagnóstico clínico, suspeita durante a penetração da agulha e o aspecto

calibre 25 x 0,6 mm ou 25 x 0,7 mm, até sentirmos que penetramos no tumor. Com movimentos de avanço e recuo da agulha em várias direções do tumor, conseguimos por capilaridade uma amostra para exame citológico. A agulha é retirada e é feita a compressão

do local, para evitarmos hematoma. Conectamos a agulha a uma seringa e o material é colocado com cuidado sobre a extremidade de uma ou de várias lâminas previamente preparadas (desengorduradas com água, sabão e éter). Uma nova colheita é feita em outras áreas do tumor, com nova agulha descartável.

significar que puncionamos um cisto hemorrágico ou vasos.

Uma ou várias lâminas são colocadas imediatamente no álcool a 95°, para serem coradas pela técnica de Papanicolaou. As outras são coradas pelo método de Giemsa, que dá "mais detalhes do cito-



Figuras 1, 2, 3, 4 - Técnica de citopunção por capilaridade.

Se o material obtido é pobre em elementos, como ocorre nos tumores fibrosos pós-radioterapia, fazemos uma nova colheita utilizando a pistola produzida pela Cameco AB da Suécia, à qual é adaptada uma seringa descartável de 10 ou 20 cc.

No caso de cistos, o líquido obtido é colocado em vidro heparinizado, sendo enviado ao laboratório para centrifugação e feitura de esfregaço com o material depositado.

Preparação de esfregaço

Com o auxílio de outra lâmina com inclinação de 10 graus, fazemos o esfregaço com movimentos suaves para cima e para baixo. Se o esfregaço é feito rapidamente, em movimentos de ziguezague ou fortemente apoiado, podemos deformar ou destruir as células, produzindo alterações pseudocarcinomasas em células benignas (Zajdela).

Durante a feitura do esfregaço observamos o aspecto macroscópico do material obtido. A presença de gotículas brilhantes na superfície da lâmina é sugestiva de gordura; material espesso e opaco indica boa celularidade e a presença de material hemático pode

plasma e cromatina, principalmente quando existe componente linforreticular" - Zajdela [14].

Exame citológico

É feito por especialista com prática em citologia mamária. No nosso serviço, a punção é feita somente por dois médicos com experiência na técnica de colheita e de microscopia mamária, facilitando assim a discussão dos casos com o citologista.

Resultados

Dos 243 casos com comprovação histopatológica, mostrada na Tabela 1, o material obtido por citopunção sem aspiração foi insuficiente em 29 casos. Em 18 casos, o material insuficiente correspondeu a lesões benignas como displasia, necrose gordurosa, ginecomastia e alguns casos de fibroadenoma, em que é comum um maior componente fibroso e uma menor celularidade. Nos tumores filodes e cistos, a celularidade diminuída foi devida principalmente às cavitações existentes.

Tabela 1. Valor da citologia sem aspiração no diagnóstico de neoplasias benignas da mama.

Diagnóstico Histológico	Nº	Concor-dante	Sus-peito	Falso Maligno	Insufi-ciente
Fibroadenoma	53	50			3
Displasia	28	24			4
Mastite	8	7			1
Tu cístico	9	6	1*		2
Filodes	7	4			3
Lipoma	2	1			1
Tuberculose	2	1			1
Necrose gordurosa	2				2
Ginecomastia	1				1
Total	112	93	1		18
Porcentagem		82,1%	0,9%		17%

*Descrição de células ductais com hiperplasia e sugerindo controle.

Nos 11 casos de lesões malignas com material insuficiente encontramos: um carcinoma mucinoso e 10 carcinomas ductais acima de 5 cm e um caso de carcinoma *in situ* menor que 2,5 cm (Tabela 2). Isto concorda com os dados da literatura, pois, nos grandes tumores, a esclerose e a necrose tecidual são responsáveis por um número mais elevado de esfregaços com material insuficiente [12].

Tabela 2. Valor da citologia sem aspiração no diagnóstico de neoplasias malignas da mama.

Diagnóstico histológico	Diagnóstico citológico				
	Nº	Concor-dante	Sus-peito	Falso benigno	Insufi-ciente
Carcinoma	129	103	11	4	11
Sarcoma maligno	2	1	1		
Total	131	104	12	4	11
Porcentagem		79,4%	9,2%	3%	8,4%

Em 93 pacientes (82,1%) a citologia mostrou processo benigno com confirmação posterior e apenas 1 caso (0,9%) de suspeita de malignidade (Tabela 1). Em nosso material tivemos quatro casos falso-negativos (Tabela 2). Um dos casos correspondeu a uma paciente de 62 anos, com um tumor de 3,0 x 2,0 cm, localizado no quadrante superior externo com diagnósticos clínico e citológico de fibroadenoma tratam-

do-se de um carcinoma mucinoso; outra paciente tinha um nódulo de 4,0 x 3,5 cm com diagnóstico citológico de displasia, *forage* inconclusivo e laudo histopatológico de carcinoma ductal *in situ* em fibroadenoma; a terceira paciente, uma senhora de 66 anos, tinha, ao exame clínico, uma lesão compatível com ectasia, citopunção sugestiva de papiloma, e o resultado da peça operatória foi de carcinoma papilar *in situ*, e a última paciente, 36 anos, tinha um diagnóstico clínico de recidiva tumoral com citopunção sugestiva de lipoma, sendo confirmada a recidiva pela biópsia.

Em 104 (79,4%) pacientes (Tabela 2), o material foi conclusivo para malignidade e suspeito em 12 (9,2%) casos, cujo estudo histopatológico mostrou tratar-se de tumores malignos.

É importante assinalar que não tivemos resultados falso-positivos.

De acordo com a Tabela 3, a correlação entre a citologia e o tamanho do tumor, nos casos verdadeiros positivos, mostrou uma sensibilidade de 95% para tumores menores de 2,5 cm; de 94% para tumores entre 2,5 e 5,0 cm e de 100% para tumores acima de 5,0 cm. Na análise da sensibilidade e especificidade descartamos o material insuficiente, pois as amostras inadequadas não têm valor para comprovação citohistopatológica (Ciarmiello) [2].

Tabela 3. Correlação do resultado citológico com o tamanho do tumor.

Resultado	Nº	Tamanho (cm)		
		< 2,5 cm	2,5 a 5,0 cm	> 5,0 cm
Verdadeiro Positivo	116	20	48	48
	Sens. 97%	Sens. 95%	Sens. 94%	Sens. 100%
Falso-positivo	0	0	0	0
Falso-negativo	4	1	3	0
Verdadeiro Negativo	94	43	40	11
	Esp. 100%			
Total	214	64	91	59

Conforme a Tabela 4, encontramos 97% de sensibilidade, com uma especificidade de 100%, e valor preditivo de resultados-positivos de 100%.

Tabela 4. Citopunção sem aspiração. Sensibilidade, especificidade, valor preditivo.

Diagnóstico verdadeiro	Citopunção	
	Positivo	Negativo
Maligno	116 (VP)	4 (FN)
Benigno	00 (FP)	94 (VN)
Sensibilidade	$\frac{116 (VP)}{116 (VP) + 4 (FN)} \times 100 = 97,0\%$	
Especificidade	$\frac{94 (VN)}{94 (VN) + 0 (FP)} \times 100 = 100\%$	
Valor preditivo de resultados positivos	$\frac{116 (VP)}{116 (VP) + 0 (FP)} \times 100 = 100\%$	

Discussão

No estudo da patologia mamária, o exame clínico, a mamografia e a citopunção, quando associados, são importantes no diagnóstico do câncer mamário, sendo possível identificar 99% dos tumores [1, 11].

Dentre os métodos de diagnóstico, a citopunção com agulha fina ocupa lugar de destaque pela sua alta sensibilidade e especificidade. Shabot e colaboradores (1982) encontraram uma sensibilidade de 96,2% para a citologia com aspiração; Bell (1983) encontrou uma sensibilidade de 89% e especificidade de 100%; Frade (1984) reporta sensibilidade de 89% e especificidade de 97%; Somers (1985) sensibilidade de 78% e especificidade de 100%; Pedersen (1986), sensibilidade de 87%, enquanto Barrows encontrou sensibilidade de 82% e especificidade de 99%.

Em nosso serviço, a sensibilidade encontrada foi de 97% e a especificidade foi de 100%, o que nos deu um valor preditivo de 100%. A citopunção mamária com agulha fina sem aspiração, na Unidade de Mastologia do Hospital de Base do Distrito Federal, é feita basicamente por dois profissionais com experiência na técnica de colheita e microscopia mamária, o que facilita a comunicação com o citologista. A isso devemos a uniformidade de critérios e os bons resultados obtidos até o momento. Zajdela (1985), Kenneth (1986) e Lee (1987) enfatizam que para a obtenção de melhores resultados é necessária uma aprendizagem com um médico experiente na técnica de citopunção, pois se estas condições não forem preenchidas, os resultados continuarão medíocres e as estatísticas contraditórias.

Os resultados obtidos por nosso grupo, com relação ao material insuficiente e falsos-negativos, foram concordantes com os citados por Zajdela (1985), Curling (1985), Sowers (1988) e Ciarmiello (1986).

Nos tumores clinicamente suspeitos realizamos

rotineiramente a citopunção sem aspiração associada ao *forage*. A sensibilidade do *forage* em nosso serviço foi de 91,3%, sendo maior nos tumores acima de 2,5 cm (92,5%) e de 83,3% nos tumores menores. Na nossa experiência, a citopunção é superior ao *forage*, principalmente nos pequenos tumores. Estes resultados concordam com os obtidos por Shabot (1982) e Minkowitz (1986).

As falhas técnicas ocorreram principalmente por passar a agulha tangencialmente, não penetrando no tumor; ou por necrose central, associação de tumor maligno com tumor benigno dominante e pela presença de um tecido fibroso, com pouca celularidade, encontrado freqüentemente nas displasias e em alguns fibroadenomas.

Temos empregado também a técnica em lesões cutâneas metastáticas e gânglios suspeitos, com ótimos resultados.

Muitos clínicos relutam em utilizar a citopunção para o diagnóstico de neoplasias mamárias pelo receio de implantação de células malignas no trajeto da agulha ou pelo aumento do risco de uma disseminação metastática. Robbins e cols. [14], analisando 1.500 pacientes com câncer de mama submetidas a citopunção aspirativa, demonstraram que este medo não tem fundamento.

A citopunção mamária sem aspiração é um método simples, de fácil execução, podendo ser feita em consultório e a baixo custo.

Como vantagens deste método acima, citamos:

1 - Esfregaços menos hemorrágicos facilitando a interpretação e o diagnóstico.

2 - Uma melhor sensação "táctil" do momento exato de penetração e da consistência do tumor, o que é importante nos pequenos tumores e gânglios. Quando se emprega agulha conectada à pistola de Cameco, o longo comprimento desta dificulta a penetração e o controle da agulha.

3 - Maior número de agregados celulares e menor distorção celular. Nos carcinomas, as pontes intercelulares são mais frouxas e as células mais "frágeis", havendo maior distorção quando a citopunção é aspirativa, devido à criação de pressão negativa no interior da seringa.

Dentre os requisitos mais importantes, destacamos os que se seguem:

1 - A experiência do médico em citopunção.

2 - O conhecimento da composição macroscópica do esfregaço, pois a qualidade dos resultados depende desta condição.

3 - A feitura correta do esfregaço.

4 - Inter-relação entre clínico e citopatologista.

5 - Citologista com experiência em citologia mamária.

Summary

Between January, 1986 and December, 1987, 525 breast cytopunctions by capilarity were done in the Unit of Mastology at the Hospital Distrital de Brasília and at the Hospital Docente Assistencial de Brasília. Among those, 243 had histopathological diagnoses from the drill biopsies (forage biopsies) and/or surgery specimen. The technique used consisted of a puncture in the suspected area of lump location with a needle of calibre 25 x 0,6 mm or 25 x 0,7 mm in several directions in order to obtain material by capilarity without aspiration. Among the 243 cases with histopathological confirmation there were insufficient material in 29 (12%) cases, leaving 214 satisfactory cases for diagnoses. These 214 cases were analysed for sensitivity, specificity and predictive value. The sensitivity was 97%; the specificity 100% and the predictive value 100%. There were no false positives results. In relation to the size of the malignant tumors the sensitivity was 95% for the smaller tumors (2,5 cm); 94% for size between 2,5-5 cm and 100% in the tumors larger than 5 cm. The sensitivity of the method was related with the characteristics of the tumor, the technique used and the cytopathologist experience. With the cytopuncture aspiration we observed less cellular distortion and less hemorrhagic smears when compared with the aspirative cytopuncture. This aspirative cytopuncture is a simple, harmless and cheap technique but training and tactile sensitivity are necessary in order to obtain good results.

Key words: cytopuncture diagnosis

Referências bibliográficas

1. BARROWS GH et al. Fine-needle aspiration of breast cancer: relationship of clinical factors to cytology results in 689 primary malignancies. *Cancer* 1986; 58(7): 1493-1498.
2. CIARMIELLO, G et al. Fine-needle aspiration cytology in breast nodules: a study of 3,300 cases. *Cytology* 1986; 8(1): 7-12.
3. CURLING M. Fine-needle aspiration of breast lesions. *The Practitioner* March 1985; 229: 221-223.
4. GARDECKI TIM, MELCHES DH, HOGGIN BM, SMITH RS. Aspiration cytology in the preoperative management of breast cancer. *Lancet* 1980: 790-792.
5. LEE KR, FOSTER RS, PAPPALLO JL. Fine needle aspiration of breast: importance of the aspirator. *The International Academy of Cytology. Acta Cytologica* 1987; 31(3): 281-284.
6. MINKOWITZ S et al. Tru-cut needle biopsy of breast: an analysis of its specificity and sensitivity. *Cancer* 1986; 57: 320-323.
7. PEDERSON L et al. Fine needle aspiration and tru-cut biopsy in the diagnosis of soft tissue metastases in breast. *Cancer Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22(9): 1045-1052.
8. ROSEN P, HAJDU S, ROBBINS C. Diagnosis of carcinoma of the breast by aspiration biopsy. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 134: 847.
9. SHABOT MM et al. Aspiration cytology in superior to tru-cut needle biopsy in establishing the diagnosis of clinically suspicious breast masses. *Ann Surg* 1982; 196(2): 122-126.
10. SOMERS RG et al. Fine needle aspiration biopsy in the management of solid breast tumors. *Arch Surg* 1985; 120: 673-677.
11. ZAJDELA A. La cytopuncture est-elle un élément de fiabilité dans les tumeurs mammaires en pratique médicale courante? La cytologie pour quel diagnostic? *Formation Méd Continue en Senol, Ed. Szuranps méd (Montpellier)* 1984: 67-74.
12. ZAJDELA A. Punção citológica. *Toko-gin Práct*, 44(3): 195-203.
13. ZAJDELA A, MAUBLANC MA. Aspiration cytology and cytoprognosis of breast lesions. *New Frontiers in Mammary Pathology* 1981; 79-97.
14. ZAJDELA A et al. The value of aspiration cytology in the diagnosis of breast cancer: experience at the Fondation Curie. *Cancer* 1975; 35: 499-506.

No Tratamento do Câncer de Mama.



TAMOXIFENO 10mg FARMITALIA

Uma nova opção para o seu receituário.

INFORMAÇÕES PARA RECEITUÁRIO

COMPOSIÇÃO

Cada comprimido contém: Citrato de tamoxifeno.... 15,2mg (equivalente a 10mg de tamoxifeno). Excipientes q.s. (Amido de Milho, Lactose, Polivinilpirrolidona, Glicolato de Amido e Sódio, Estearato de Magnésio).

INDICAÇÕES

TAMOXIFENO é indicado no tratamento paliativo do câncer avançado da mama.

CONTRA-INDICAÇÕES

Gravidez; hipersensibilidade conhecida ao tamoxifeno.

PRECAUÇÕES

TAMOXIFENO deve ser usado cautelosamente em pacientes

com leucopenia e trombocitopenia preexistentes. Apesar de observações ocasionais de leucopenia e trombocitopenia durante o tratamento com TAMOXIFENO, não há certeza de que tais efeitos sejam devidos à droga. Há relatos eventuais de diminuição transitória da contagem de plaquetas (com taxas de 50.000—100.000/mm³; raramente menos) em pacientes com câncer de mama sob tratamento com TAMOXIFENO. Não foi registrada qualquer tendência à hemorragia, retornando ao normal a taxa de plaquetas, mesmo com a continuação do tratamento.

POSOLOGIA E MODO DE USAR

Iniciar o tratamento com um comprimido duas vezes ao dia. Caso não ocorra resposta satisfatória dentro de um mês, aumentar a dose para dois comprimidos duas vezes ao dia.

APRESENTAÇÃO

Caixas com 30 comprimidos.

 FARMITALIA CARLO ERBA

GRUPO ERBAMONT

LANÇAMENTO

Uma nova e efetiva droga no tratamento da



Minimiza os riscos e os inconvenientes dos derivados opiáceos.

- **Tramal[®]** não provoca depressão cardiovascular. (*)
- **Tramal[®]** não provoca depressão respiratória. (*)
- **Tramal[®]** não provoca constipação. (*)
- **Tramal[®]** não provoca euforia.
- **Tramal[®]** não provoca aumento da pressão da artéria pulmonar.
- **Tramal[®]** não provoca espasmo da musculatura lisa.
Ex.: Esfincter de Oddi.
- **Tramal[®]** proporciona mínima probabilidade de desenvolvimento de tolerância e dependência física. (*)

(*) Em doses terapêuticas

DR

Tramal®

cloridrato de tramadol

O analgésico de ação central, eficaz no tratamento das dores moderadas a severas.

Apresenta vantagens adicionais sobre os antiinflamatórios e analgésicos de ação periférica.

- **Tramal®** não interfere na síntese das prostaglandinas.
- **Tramal®** não provoca irritação gástrica.
- **Tramal®** não interfere na coagulação/agregação plaquetária.
- **Tramal®** não possui ação antitérmica.
- **Tramal®** não influencia as contagens sanguíneas e as enzimas hepáticas.

FORMA	FARMACÊUTICA	ESQUEMA POSOLÓGICO
	CÁPSULAS 50 mg	Dose Inicial 1 cápsula de 50 mg. Se necessário, pode-se administrar outra cápsula 30/60 minutos após a primeira dose. Frequência de Administração Em média, 3 a 4 tomadas diárias.
	INJETÁVEL 100 mg	Via Endovenosa 1 ampola de 100 mg por injeção lenta, 3/4 vezes ao dia. Para infusão, diluir 2 ampolas em 500 ml de solução. (Gotejamento: 10 a 20 gotas/minuto). Via Intramuscular e Subcutânea 1 ampola 3 a 4 vezes ao dia.

GRÜNENTHAL

Grünenthal GmbH
Stolberg, Alemanha

FARMITALIA CARLO ERBA

GRUPO ERBAMONT



Farlutal[®] AD

acetato de medroxiprogesterona

Modifica a imagem dos pacientes com câncer avançado de mama.

- Melhora a qualidade de vida.
- Oportunidade para reverter o progresso da doença.
- Boa tolerabilidade geral.



INFORMAÇÕES PARA PRESCRIÇÃO

- Nome genérico: Acetato de Medroxiprogesterona
- Forma Farmacéutica: Suspensão Injetável
- Apresentação: Caixa com 1 frasco-ampola contendo 2,5ml de suspensão injetável a 20%.

USO ADULTO

COMPOSIÇÃO COMPLETA:

Cada frasco-ampola contém:
Acetato de Medroxiprogesterona 500mg
Excipiente q.s. (polietilenoglicol 4000, polissorbat 80, metil p-hidroxibenzoato, propil p-hidroxibenzoato, cloreto de sódio).
Água para injeções q.s.p. 2,5ml

INDICAÇÕES

Carcinoma da mama, do endométrio, da próstata, do rim, Adenoma prostático.

CONTRA-INDICAÇÕES

Tromboflebitis, distúrbios de natureza tromboembólica, insuficiência hepática grave, aborto retido, hipercalemia em pacientes portadores de metástases ósseas, metrorragias de natureza não estabelecida, gravidez confirmada ou suspeita e hipersensibilidade ao fármaco.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS

Foi assinalado um possível relacionamento entre a administração de progestágenos nos primeiros meses de gravidez e a presença de malformações congênitas no recém-nascido; é portanto desaconselhável o uso do produto na gravidez. Ocorrendo distúrbios de natureza tromboembólica, perda brusca da visão, parcial ou total, diplopia, edema da papila, lesões vasculares retinianas, hemicrânia, o tratamento deve ser suspenso.

No caso de perdas sangüíneas vaginais aconselha-se um esclarecimento diagnóstico.

No caso em que se torne necessário um exame histológico é oportuno assinalar que a paciente está sendo tratada com progestágenos.

POSOLOGIA

A posologia geralmente varia, conforme a indicação, entre 1.000 e 3.000 mg por semana (fracionados em 2-3 administrações por injeções intramusculares profundas, em regiões indenes).

 **FARMITALIA CARLO ERBA**

GRUPO ERBAMONT

Study models for inducing tumors by 7,12-dimethylbenz (A) - Anthracene in rat mammary gland

FERNANDO GUIMARÃES, QUIVO SCHWARTZBURD TAHIN, TEREZA CRISTINA CAVALCANTI, CLARA PÉROLA BAUMEL

Trabalho realizado no Laboratório de Pesquisas Bioquímicas. Divisão de Oncologia - CAISM - UNICAMP

Summary

Five study models (A, B, C, D, E) were used to investigate the effect of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene in inducing tumors in the mammary tissue of Sprague-Dawley rats. Each group was subjected ad libitum to the following diets: group A - commercial ration; groups B/C - a semipurified linoleic acid-rich diet; group D - a semipurified saturated fatty acid-rich diet; group E - a semipurified fat diet composed of 50% soybean oil (rich in essential fatty acid), 25% olive oil (rich in oleic acid) and 25% coconut oil (rich in saturated fatty acid). The animals were fed through intragastric instillation, one or two doses of DMBA dissolved in 1 ml of soybean oil. Group A animals received a single 10 mg-DMBA-doses 60 days after birth. Group B animals received two-20 mg-DMBA-doses, the first dose 45 days after birth and the second 60 days after birth. Groups C, D and E animals were treated in the same way as group B animals. The control-groups were fed 1 ml-placebo-soybean oil. DMBA induced tumors in the treated rats as visualized in the following results:

- 1) Groups A, B, C, D and E developed 52%, 76%, 88%, 60% and 67% tumors, respectively;
- 2) In the test groups A, B, C, D and E the first palpable tumor was reported at 200 ± 52 , 103 ± 36 , 48 ± 1 , 133 ± 62 and 183 ± 45 days after DMBA administration, respectively.
- 3) 14.8%, 40.7%, 97.5%, 50.0% and 41.7% of all tumors were classified as adenocarcinoma.

The results suggest that study model "C" was the most effective one, inducing higher incidence of adenocarcinomas in DMBA-treated-rats, the symptoms being evidenced in the shortest experimental time.

Key words: breast cancer; DMBA; rat mammary gland; study models

Introduction

The compound 7,12-dimethylbenz (a) anthracene has been used for over 30 years as a very potent chemical carcinogen of animal mammary tissue [1-4]. Upon administration of DMBA, hyperplastic lesions are found shortly after treatment, and those lesions may be classified into two groups: benign or malignant tumors [5-7]. It is well known that the effectiveness of DMBA as a tumor inducer depends on several factors or experimental conditions: the age of animals during DMBA administration [1, 2, 5], nutritional lipids [8-17]

and hormone status [18]. Huggins et al. [1, 2] and Russo et al. [5, 18] have clearly demonstrated that DMBA is more effective when administrated prior to mammary gland maturation (up to 60 days of age). Older virgin female rats showed significant lower incidence of tumors induced by DMBA [5, 18]. Dietary lipids and fatty acids (FA) may be considered as co-carcinogen [10] because high fat diets and linoleic acid-rich diets strongly stimulate the incidence, malignancy, number of tumors per rat and the yield of tumor-bearing rats due to the action of DMBA in mammary tissue [8-18]. On the other hand, dietary lipids

*Author's address for correspondence: Laboratório de Pesquisas Bioquímicas - Divisão de Oncologia - CAISM - UNICAMP. Cx Postal 6151 - Campinas, SP - CEP 13081

rich in saturated FA or in n-3 polyunsaturated FA have an opposite effect [9, 12, 13, 17, 18].

In the present work five DMA study models were investigated with the objective of identifying the most effective method of inducing adenocarcinomas in rats in the shortest experimental time.

Material and Methods

Weaning female Sprague-Dawley rats were used. Groups of five animals were housed in plastic cages, fed with their particular diets and maintained in temperature controlled room at $22 \pm 1^\circ\text{C}$ and 12-hour light/dark cycle. Study model A was fed a commercial ration ("Probiotério G", Anderson Clayton Co.). Study models B, C, D and E were fed with semipurified diets prepared in our laboratory [19]. Diets B and C contained sunflower seed oil (rich in linoleic acid), diet D coconut oil (rich in saturated fatty acids), and diet E 50% soybean oil (rich in essential fatty acids), 25% olive oil (rich in oleic acid, a monounsaturated FA) and 25% coconut oil (rich in saturated FA). At appropriate times, the animals received one or two 10/20 mg-DMBA doses (SIGMA Co.) dissolved in 1 ml of soybean oil administrated through intragastric instillation, the animals being fed with diets according to Table 1. The control-group animals received a placebo of 1 ml of soybean oil by intragastric instillation, the feeding treatments presented in Table 1. The animals were weighed and palpated weekly. By the end of the experiment, the animals were anesthetized with either, the tumors surgically removed, their size and weight determined, and sent for histopathological study. The rats were sacrificed after 350 days (groups A and B) and between 190 and 350 days (groups C, D, E) after DMBA administration. Some rats from groups C, D and E were sacrificed prior to the end of the experiment due to symptoms of weakness or imminent death.

Table 1. Type of diets and the amount of one or two doses of DMBA administrated through gastric instillation after 45 and/or 60 days birth in female rats of study models A, B, C, D and E

Models	Diets (source of fats)	45 days	60 days
A	Chow	none	10 mg
B	semipurified (SO)	10 mg	10 mg
C	semipurified (SO)	20 mg	20 mg
D	semipurified (CO)	20 mg	20 mg
E	semipurified (MIX)	20 mg	20 mg

SO = sunflower seed oil; CO = coconut oil; MIX = 50% of soybean oil, 25% of olive oil, 25% of coconut oil

Results and Discussion

The results in Table 2 show the incidence of tumors DMBA-treated rats of each study model.

Table 2. Percentage of tumors and tumor-bearing rats induced by DMBA in female rat mammary gland in study models A, B, C, D and E

	Study models				
	A	B	C	D	E
Number of rats	25	25	25	10	15
Total number of tumors*	27	27	40	12	16
Number of tumor-bearing rats	13	19	22	6	10

*Benign plus malignant tumors

By the end of the experiment, the percentage of tumor-bearing rats was higher in group C (Figure 1) as well as the palpable-tumor-detection-time (Figure 2). The incidence of tumors found in tumor-bearing rats was a little higher in group A (Figure 3). However, most of the tumors found in groups A, B, D and E were benign while most of the tumors present in group C were adenocarcinomas (Figures 4 and 5). Group A reported the only *in situ* carcinoma.

The results described above suggest that model C (linoleic acid-rich diet and two-20 mg-DMBA-doses) was the most effective in inducing the largest number of tumors in rats, in the shortest experimental time. Nearly 100% of the tumors in model C were adenocarcinomas. When the dietary lipids were poor in linoleic acid (groups D and E), the rats (two-20 mg-

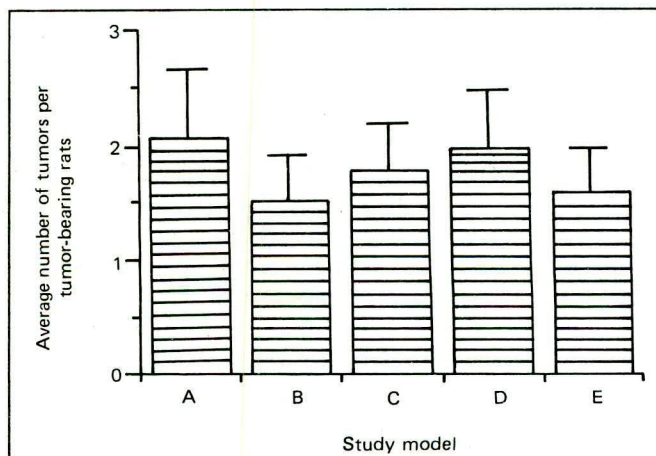


Figure 1 - The average number of mammary tumors found (benign plus malignant) in tumor-bearing rats treated by DMBA in the five study models A, B, C, D and E.

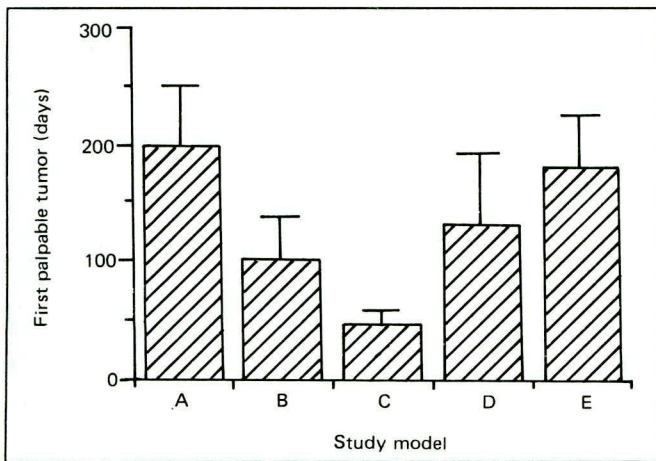


Figure 2 - The average time of detection of the first palpable mammary tumor of rats treated by DMBA in the five study models A, B, C, D and E.

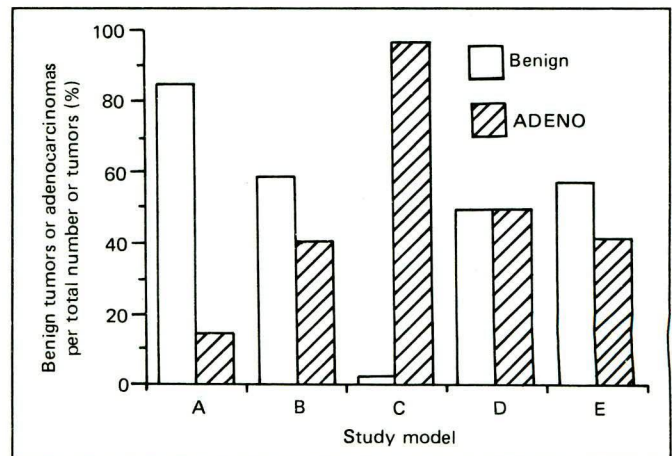


Figure 5 - The percentage of benign tumors (adenocarcinomas) in relation to the total number of mammary tumors of tumor-bearing rats treated by DMBA in the five study models A, B, C, D and E

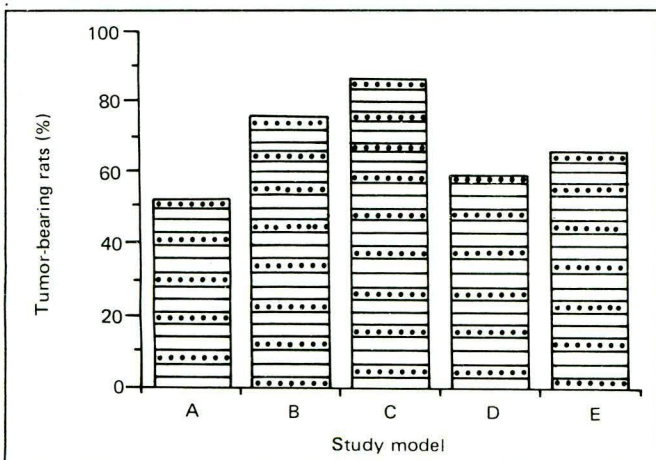


Figure 3 - Percentage of mammary tumor-bearing rats treated by DMBA in the five study models A, B, C, D and E.

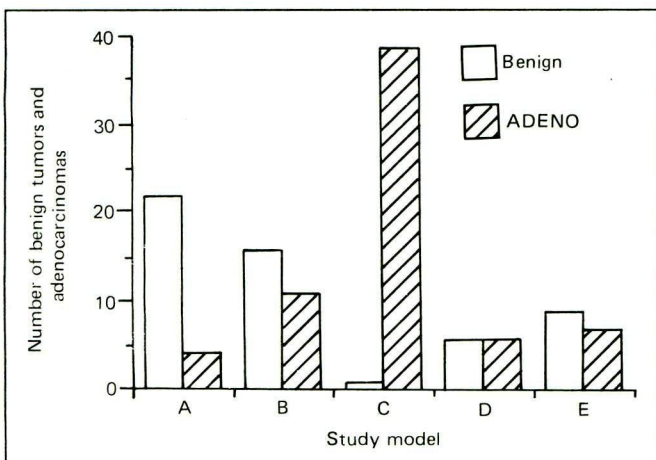


Figure 4 - Total number of mammary tumors in tumor-bearing rats treated by DMBA in the five study models A, B, C, D and E.

DMBA-doses) reported a much lower incidence of adenocarcinomas when compared to model C. These results are supported by a number of literature reports [8-13, 15, 17]. It was observed in addition, that 20 mg of DMBA induced highly toxic effects. Therefore, additional studies have yet to be carried out in order to further improve this study model.

Resumo

Cinco modelos de estudo (A, B, C, D, E) foram usados para investigar o efeito do 7,12-dimetilbenz(a)antraceno em induzir tumores no tecido mamário de ratas Sprague-Dawley. Cada grupo foi submetido ad libitum às seguintes dietas: grupo A - ração comercial; grupos B e C - uma dieta semipurificada rica em ácido linoléico; grupo D - uma dieta semipurificada rica em ácido graxo saturado; grupo E - uma dieta gordurosa composta de 50% de óleo de soja (rico em ácido graxo essencial), 25% de óleo de oliva (rico em ácido oleico) e 25% de óleo de coco (rico em ácido graxo saturado). Os animais receberam, através de instilação intragástrica, uma ou duas doses de DMBA dissolvidas em 1 ml de óleo de soja. Os animais do grupo A receberam uma dose simples de 10 mg de DMBA, 60 dias após o nascimento. Os animais do grupo B receberam duas doses de 20 mg de DMBA, a primeira dose 45 dias após o nascimento e a segunda 60 dias após o nascimento. Os animais dos grupos C, D e E foram tratados da mesma maneira que os animais do grupo B. Os grupos-controle receberam 1 ml de placebo, óleo de soja. O DMBA induziu tumores nos ratos tratados como visualizado nos seguintes resultados:

1) Os grupos A, B, C, D e E desenvolveram 52%, 76%, 88%, 60% e 67% de tumores, respectivamente.

2) Nos grupos-testes A, B, C, D e E, o primeiro tumor palpável foi visto a 200 ± 52 , 103 ± 36 , 48 ± 1 , 133 ± 62 e 183 ± 45 dias após a administração do DMBA, respectivamente.

3) 14,8%, 40,7%, 97,5% e 41,7% de todos os tumores foram classificados como adenocarcinomas.

Os resultados sugerem que o modelo de estudo "C" foi o mais efetivo, induzindo, o maior, incidência de adenocarcinomas nos ratos tratados por DMBA, os sintomas foram evidentes no menor tempo experimental.

Unitermos: câncer mamário; DMBA; glândula mamária de rato; estudo de modelos

Acknowledgement

This study was aided by grants from FAPESP (372/87) and FAP (83/2670).

References

- HUGGINS C, BRIZIARELLI G, SUTTON H. Rapid induction of mammary carcinoma in the rat and the influence of hormone on the tumors. *J Exp Med* 1959; 109: 25-54.
- HUGGINS C, GRAND LC, BRILLANTES FP. Mammary cancer induced by a single feeding of polynuclear hydrocarbons and its suppression. *Nature* 1961; 189: 204-207.
- DIGIOVANNI J, JUCHAU MR. Biotransformation and bioactivation of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (7,12-DMBA). *Drug Metab Rev* 1980; 11(1): 61-101.
- MILLER EC. Some current perspectives on chemical carcinogenesis in humans and experimental animals: presidential address. *Cancer Res* 1978; 38: 1479-1496.
- RUSSO J, WILGUS G, RUSSO IH. Susceptibility of the mammary gland to carcinogenesis. I. Differentiation of the mammary gland as determinant of tumor incidence and type of lesion. *Am J Pathol* 1979; 96: 721-736.
- PURNELL DM. The relationship of terminal duct hyperplasia to mammary carcinoma in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-treated LEW/Mai rats. *Am J Pathol* 1980; 98: 311-324.
- ALVARENGA M, CAVALCANTI TC, TAHIN QS. Histopathologic grading system for epithelial abnormalities induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) in female rat mammary tissue. *Breast Dis* 1989; 2: 71-79.
- CARROLL KK, GAMMAL EB, PLUNKTT ER. Dietary fat and mammary cancer. *Cand Med Ass J* 1968; 98: 590-594.
- CARROLL KK. Summation: which fat/how much fat animals. *Prev Med* 1987; 16: 510-515.
- KRITCHEVSKY D. Lipids and cancer. In: Arnott MS, van Eys J, Wang Y-M, eds. *Molecular Interrelations of Nutrition and Cancer*. New York: Raven Press 1982: 209-217.
- ABRAHAMS, FAULKIN LJ, HILLYARD LA, MITCHELL DJ. Effect of dietary fat on tumorigenes in the mouse mammary gland. *J Natl Cancer Inst* 1984; 72(6): 1421-1429.
- SELENKAS SL, IP MM, IP C. Similarity between trans fat and saturated fat in the modification of rat mammary carcinogenesis. *Cancer Res* 1984; 44: 1321-1326.
- ABOU-EL-ELA SH, PRASSE HW, CARROLL R, WADE AE, DHARWADKAAR S, BUNCE OR. Eicosanoid synthesis in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinoma in Sprague-Dawley rats fed primose, menhaden oil or corn oil diets. *Lipids* 1988; 23: 948-954.
- TAHIN QS, CAVALCANTI TC. The effect of dietary lipids in the fatty acid composition of mammary mitochondria of female rat treated with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *Breast Dis* 1991; in press.
- CARROLL KK. Fish oils and cancer. In: Chandra RK, ed. *Health Effects of Fish Oils*. St. John's, Newfoundland: ARTS Biomedical Publishers & Distributors, 1989: 395-408.
- JACOBSON EA, JAMES KA, NEWMARK HL, CARROLL KK. Effects of dietary fat, calcium, and vitamin D on growth and mammary tumorigenesis induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Res* 1989; 49: 6300-6303.
- CARROLL KK. Experimental and epidemiological evidence on marine lipids and carcinogenesis. In: Less RS, Karel M. eds. *Omega-3 fatty acids in health and disease*, New York: Marcel Dekker Inc., 1990: 99-114.
- RUSSO J, RUSSO IH. Biology of disease. Biological and molecular bases of mammary carcinogenesis. *Lab Invest* 1987; 57(2): 112-137.
- CAVALCANTI TC, MELLO RA, De CAMARGO AM, TAHIN QS. Mammary mitochondria ATPase of female rats treated by DMBA and two lipid diets. *IRCS Med Sci* 1986; 14: 1161-1162.

Hipernefroma. Revisão de 46 casos

JOSÉ PASCOAL CORTEZ¹, CARLOS HERMANN SCHAAL¹, RENATO PRADO COSTA²

Trabalho realizado no Serviço de Urologia do Hospital Oncológico Amaral Carvalho - Jaú - São Paulo, SP.

Resumo

No período de 1976 a 1989, 46 pacientes com hipernefroma foram tratados no Serviço de Urologia do Hospital Amaral Carvalho. Esses pacientes foram divididos segundo o estadiamento do tumor e foram estudados em relação ao sexo, idade, cor, lado afetado e conduta do serviço, nesses 13 anos. Foi realizado levantamento da literatura mundial a respeito das condutas atuais nesses tumores.

Unitermos: hipernefroma; tumor renal

Introdução

O carcinoma de células renais, ou hipernefroma, é um tumor relativamente raro, que se origina das células do túbulo contornado proximal. É a 3ª mais comum neoplasia do aparelho geniturinário [24], tem uma incidência aproximada de 2,17% dos processos tumorais malignos nos adultos, sendo raramente bilateral [6].

O hipernefroma tem uma maior incidência em portadores de rins policísticos, em portadores de síndrome de Von Hippel-Lindau e é discretamente maior em fumantes [10].

É um tumor principalmente dos adultos, aparece mais freqüentemente entre a 5ª e 7ª décadas da vida e ocasionalmente pode ocorrer em pessoas jovens (menos de 1% antes dos 20 anos), inclusive bilateralmente [15, 22, 23]. Segundo observações de alguns autores, esse tumor mostra comportamento biológico extremamente agressivo na gravidez [17].

No momento do diagnóstico, 30% dos pacientes com hipernefrina apresentam doença disseminada [23], sendo mais freqüentes as metástases pulmonares, seguidas pelas metástases em linfonodos, ossos, fígado, adrenal, pleura e cérebro e raramente em bexiga e glândula parótida [7, 8, 16, 18, 23].

Trinta a cinqüenta por cento dos pacientes apresentam metástases após nefrectomia [5, 8, 18].

Material e Métodos

Cinqüenta e dois pacientes adultos com tumor renal foram atendidos em nosso serviço, no período de 10/76 a 11/89. Desses, 46 eram hipernefomas, três sarcomas, um leiomiossarcoma e dois oncocitomas.

Dos pacientes com hipernefroma, 17 eram do sexo masculino e 29 do sexo feminino; os tumores eram 21 do lado direito e 25 do lado esquerdo, nenhum bilateral.

A maioria dos pacientes apresentava hematúria, dor lombar, emagrecimento, e apresentava idade de 50 a 70 anos (um paciente tinha 32 anos e um outro 42 anos).

Esses pacientes apresentavam estadiamento cirúrgico segundo a Tabela 1.

Em nosso serviço usamos a classificação proposta por Robson [19], para estadiamento pós-cirúrgico:

Estádio I - Tumor confinado ao rim, sem invasão da cápsula renal.

Estádio II - Invasão da gordura perirrenal, mas tumor confinado à cápsula de Gerota.

¹Médico Assistente do Serviço de Urologia do Hospital Oncológico Amaral Carvalho; ²Médico Chefe do Serviço de Urologia do Hospital Oncológico Amaral Carvalho

Tabela 1. Incidência dos casos de hipernefomas por estadiamento [19], cor, sexo, raça, rim acometido e sobrevida.

Estádio	Cor		Sexo		Lado		Sobrevida	
	Branca	Negra	Masc.	Fem.	Dir.	Esq.	< 1	1 a 5
I	14	1	11	4	5	10	1	6
II	2		2		1	1		1
IIIa	2			2	2			1
IIIb	2		1	1	1	1		2
IIIc	1			1		1		
IVa	8		4	4	5	3	7	1
IVb	16		10	6	7	9	16	
Total	45	1	28	18	21	25		

Anos			
> 5	Perda de follow-up	Óbito P.O. imediato	Total
4	3	1	15
	1		2
		1	2
			2
		1	1
			8
			16
			46

Estádio III - a) Invasão da luz das veias renal e cava; b) Invasão dos linfonodos regionais; c) a + b ou tumor invade parede vascular.

Estádio IV - a) - Tumor invade órgãos adjacentes ao rim, além da adrenal; b) - metástases à distância.

Estádio I - Dos 15 pacientes com tumor confinado ao rim, três foram operados fora do serviço, antes de serem encaminhados. Um paciente com rim único foi encaminhado para cirurgia em serviço com hemodiálise, e 11 pacientes foram operados no serviço. No seguimento, tivemos um óbito súbito no 8º dia P.O. e um paciente evoluiu com metástases e óbito quatro anos após a cirurgia.

Os 12 pacientes restantes estão sem evidência clínica de atividade tumoral.

Quatro pacientes permanecem com seguimento de mais de cinco anos (6 a 11 anos), sete pacientes com seguimento de menos de cinco anos e um paciente com seguimento de seis meses.

Estádio II - Tivemos dois pacientes: um que recebeu alta em bom estado geral e não retornou, e um paciente que está sem evidências de atividade tumoral três anos após a cirurgia.

Estádio III - Tivemos cinco pacientes: dois foram operados fora do serviço e evoluíram para óbito. Três pacientes estão sob seguimento pós-cirúrgico de um

a três anos sem atividade tumoral (60% de sobrevida).

Estádio IV - Tivemos 24 pacientes: cinco deles foram operados fora do serviço. Dez pacientes tinham tumor inoperável, dos quais seis foram a óbito logo após a internação e dois foram a óbito após embolização da artéria renal. As metástases foram encontradas: no pulmão (nove pacientes), fígado e ossos (dois pacientes), gânglios cervicais, cérebro e tecido celular subcutâneo (um paciente).

Todos os pacientes foram incluídos num protocolo único, que tem como conduta cirúrgica a nefroureterectomia radical e linfadenectomia retroperitoneal homolateral, junto ao hilo renal, para fins de estadiamento. A abordagem é a toracofrenolaparotomia.

A embolização da artéria renal é usada quando o tumor apresenta-se muito volumoso ou quando ocorre hemorragia severa.

A radioterapia é usada excepcionalmente, no pós-operatório, quando há resíduo tumoral, ou, ainda, quando o paciente apresenta dor de difícil controle clínico.

O seguimento desses pacientes é feito de três em três meses, até dois anos, e de seis em seis meses, indefinidamente, com RX de tórax, hemograma, uréia, creatinina, fosfatase alcalina, transaminases, cálcio e urina I. A urografia excretora e o ultra-som são realizados a cada três meses.

No início utilizávamos a urografia e excepcionalmente a arteriografia na propedêutica diagnóstica. A partir de 1986 passamos a utilizar, rotineiramente, também a tomografia computadorizada, com base na alta sensibilidade diagnóstica do método [21].

Discussão

As estatísticas do nosso serviço mostram que o melhor prognóstico dos pacientes com hipernefroma ainda permanece naqueles com estadiamento pós-cirúrgico I, II e IIIa, em que se consegue realizar, com segurança, nefroureterectomia radical com linfadenectomia homolateral.

A literatura mundial enfatiza que a nefrectomia radical ainda é o tratamento de escolha para os pacientes com hipernefroma e rim contralateral normal; enfatiza ainda que o estágio e grau do tumor são definidos pelo exame patológico e não clinicamente, apesar das técnicas avançadas de imagem [2, 5, 16, 23].

Alguns autores, em revisões extensas de hipernefroma, encontraram em média 88% de sobrevida de cinco anos e 66% de sobrevida de 10 anos, após cirurgia, quando o tumor estava confinado ao rim (estádios I e II). Esses autores mostram que há um de-

créscimo na sobrevida quando o tumor invade a gordura perirrenal, linfonodos regionais, ou a parede das veias renais ou cava; diferentemente daqueles pacientes que apresentam trombo tumoral de veia renal ou cava, pois, se não há metástases ganglionares ou à distância, a sobrevida é igual à dos pacientes que têm tumor confinado ao rim [3, 4, 5, 23].

Ainda pioram o prognóstico: o tamanho do tumor, maior que 5 cm de diâmetro, invasão do sistema coletor renal, além da presença de metástases no momento da cirurgia [5]. Existe ainda relação entre o tamanho do tumor e a presença de metástases [23].

Apesar de alguns autores [2, 8] afirmarem a existência de regressão de metástases (principalmente pulmonares) após nefrectomia, nesses 13 anos, não observamos tal fato. Na literatura, acha-se descrito que há 0,8% de regressão de metástases após 571 nefrectomias e 0,3% de 1.139 nefrectomias, realizadas por dois autores diferentes [8, 13].

Dos pacientes com tumor estágio IIIa, tivemos um paciente que, submetido à nefrectomia radical com trombectomia da veia cava, está sem sinais de metástases quatro anos após a cirurgia, como era esperado segundo a literatura [5, 9].

Dos pacientes com tumor estágio IV, tivemos 95% de óbitos com menos de um ano, sendo que 62% dos pacientes foram a óbito com menos de um mês, desde o diagnóstico, pois são pacientes que chegam ao serviço em mau estado geral, com metástases múltiplas e tumores inoperáveis.

Nestes casos, realizamos nefrectomia paliativa somente quando há dor intensa ou sangramento incontrolável, porque nem a nefrectomia ou a ressecção das metástases melhoram o prognóstico desses pacientes [5, 8, 9, 13].

Apesar de trabalhos otimistas a respeito de cirurgia conservadora em hipernefroma (nefrectomia parcial ou enucleação do tumor [2, 10, 11, 12, 14], o protocolo do nosso serviço indica realizar estes procedimentos somente quando há tumor em rim único, nos casos de tumor bilateral e nos pacientes com doença multifocal bilateral associada com síndrome de Von Hippel-Lindau.

O hipernefroma metastático tem sido sempre associado a mau prognóstico apesar das novas formas de terapia, como embolização, quimioterapia e imunoterapia, que estão em fase de estudo; ainda não há estatísticas consistentes de sua eficácia [2, 13].

Na quimioterapia, ainda não se encontraram agentes eficazes e, apesar do sucesso da quimioterapia em outros tumores urológicos, o hipernefroma continua refratário aos agentes citotóxicos mesmo quando associados [4, 10, 23].

Alguns autores apresentam trabalho de associação de interferon com vimblastina, mas com resultados modestos [9] e ainda indefinidos.

A terapia hormonal, apresentada desde 1971, não se mostrou eficaz no tratamento desses tumores, pois conclui-se que o hipernefoma não é um tumor hormônio-dependente, e que os 2% de regressão de metástases associadas ao emprego dessas drogas (progesterona, associada ou não à testosterona), encontrados na literatura, não é expressivamente superiores à remissão espontânea, observada em 0,8% dos casos [1, 4, 23].

A utilização do angiointerferão, precedendo à nefrectomia em três a cinco dias, visando teoricamente o estímulo a uma resposta imune, veio a facilitar o ato cirúrgico, porém não apresentou os resultados favoráveis dos primeiros casos, após seguimento prolongado em relação aos pacientes não submetidos a esta técnica.

A imunoterapia se apóia na teoria de que as funções imunitárias do hospedeiro têm um papel no controle do tumor, e que essas funções podem ser estimuladas, o que é sugerido pela regressão espontânea de alguns tumores e pelo crescimento retardado de lesões metastáticas [4]. Baseados nessa teoria, diversos autores estudaram diversos métodos como: BCG, RNA IMUNE, suspensão de células tumorais autólogas, antígenos polimerizados mais adjuvantes e Interferon, sem contudo alcançar eficiência no controle de pacientes com adenocarcinoma metastático de rim [4, 23].

O hipernefoma metastático ainda hoje constitui um grande desafio para o urologista, pela sua alta porcentagem de mortalidade e falta de recursos terapêuticos.

Os trabalhos mais recentes, na literatura mundial, mostram estudos muito dirigidos para a quimioterapia e imunoterapia, que são as grandes esperanças nos tratamentos desses tumores.

Summary

From 1976 to 1989, 46 patients with renal cell carcinoma were treated at the Urologic Service of the Oncologic Hospital Amaral Carvalho. These patients were analysed considering sex, age, race, involved side, clinical staging and guidelines of therapy in these 13 years. A review of present therapy for these tumors is presented.

Key words: hipernefoma; renal tumor

Referências bibliográficas

1. BROECKER NETO A, LAGO S, RADKE RC, COSTA AJ. Uso da progesterona no adenocarcinoma renal. J Bras Urol 1985; 122: 1985.
2. CARINI M, SELLI C, BARDANTI G, LAPINI A, TURINI D, CONSTANTINI A. Conservative surgical treatment of renal cell carcinoma: Clinical experience and reappraisal of indications. J Urol 1988; 140: 725.
3. CHASAN SA, POTHEL LR, HUBEN RP. Management and prognostic significance of hypercalcemia in renal cell carcinoma. Urology 1989; 23: 167.
4. DE KERNION JB. Renal Tumor in Campbell's Urology: WB Saunders Co., Philadelphia 1986: 1294.
5. GOLIMBU M, JOSHI P, SPERBER A, TESSLER A, AL-ASKARI S, MORALES P. Renal cell carcinoma: Survival and prognostic factors. Urology 1986; 27: 291.
6. GUARIN U, GABRIEL JB, PATEL R, CHAUHAN PM. Bilateral renal cell carcinoma and synchronous occurrence of transitional cell carcinoma of renal pelvis. Urology 1986; 27: 456.
7. GUMBAY MU, CERYAN K, KUPELIOGLU AA. Metastatic renal cell carcinoma to the parotid gland. J Laryngol Otol 1989; 103: 417.
8. KAVOUSSI LR, LEVINE SR, KADMON D, FAIR WR. Regression of metastatic renal carcinoma. Urology 1986; 135: 1005.
9. LIBERTINO JA, ZINMAN L, WATKINS E Jr. Long-term results of resection of renal cell cancer with extension into inferior vena cava. J Urol 1987; 137: 21.
10. MALEK RS, OMESS PJ, BENSON RC, ZINCKE H. Renal cell carcinoma in Von Hippel-Lindau syndrome. Amer J Med 1987; 82: 236.
11. MALEK RS, OTZ DC, CULP OS. Hypernephroma in the solitary kidney: Experience with 20 cases and review of the literature. J Urol 1976; 116: 553.
12. MASHALL FF, TAXY JB, FISHMAN EK, CHANG R. The feasibility of surgical enucleation for renal cell carcinoma. J Urol 1986; 135: 231.
13. NEVES RJ, ZINCKE H, TAYLOR WF. Metastatic renal cell cancer and radical nephrectomy: identification of prognostic factors and patient survival. J Urol 1988; 139: 1173.
14. NOVICK AC, ZINCKE H, TOPLEY HM. Surgical enucleation for renal cell carcinoma. J Urol 1986; 135: 235.
15. OMLAND H, FOSSA SD. Spontaneous regression of cerebral and pulmonary metastases in renal cell carcinoma. Scand J Urol Nephrol 1989; 23: 159.
16. ONISHI T, MACHIDA T, MASUDA F, KURAUCHI H, MORI Y, SUZUKI M, IIZUKA N, KONDA I, FURUTA N, SHIRAKAWA H. Nephrectomy in renal carcinoma with distant metastasis. Br J Urol 1989; 63: 600.
17. POMPEO ACL, TOLEDO WP, SROUGI M, MESQUITA JL, TERCIC AD, ARAP S. Tumor renal e gravidez. J Bras Urol 1987; 12: 7.
18. REMIS RE, HALVERSTADT DB. Metastatic renal cell carcinoma to the bladder: Case report and review of the literature. J Urol 1986; 136: 1294.
19. ROBSON CJ, CHURCHILL BM, ANDERSON W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. Trans Am Assoc Genitourin Surg 1968; 60: 122.
20. SCHORNAGEL JH. Phase II study of recombinant interferon alpha-2 and vimblastine in advanced renal cell carcinoma. J Urol 1989; 142: 253.
21. SEASE WC, BELIS JA. Computerized tomography in the early postoperative management of renal cell carcinoma. J Urol 1986; 136: 792.
22. SIEGEL SW, RISIUS B, TUBBS R, SHEPARD KV, PONTES JE. Bilateral solid renal masses in a young man. J Urol 1986; 135: 327.
23. SROUGI M, ARAP S, TOLEDO WP. Adenocarcinoma renal: estado atual dos conhecimentos. J Bras Urol 1986; 12: 85.
24. THOMPSON IM, PEEK M. Improvement in surgical of patients with renal cell carcinoma. The role of the serendipitously detected tumor. J Urol 1988; 140: 487.

Tumores malignos de células germinativas do ovário: expressão de enolase neurônio-específica, alfa-1-antitripsina e alfa-1-antiquimotripsina

JOSÉ A. A. CRESPO RIBEIRO¹, FLORÊNCIO FIGUEIREDO²

Apoio financeiro da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência (FAEPA) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Resumo

Foi realizado um estudo imuno-histoquímico para verificar a expressão de enolase neurônio-específica (NSE), alfa-1-antitripsina (AAT) e alfa-1-antiquimotripsina (AAQT) em tumores malignos de células germinativas do ovário. As reações imuno-histoquímicas foram realizadas em tecidos previamente fixados em formol e embebidos em parafina de sete disgerminomas, três tumores do seio endodérmico, três teratomas imaturos e um coriocarcinoma. Todos os tumores, exceto o coriocarcinoma, expressaram NSE. As reações com os anticorpos anti-AAT e AAQT foram positivas em todos os tipos histológicos dos tumores. Estes dados sugerem que NSE, AAT ou AAQT podem ser mais um marcador para os tumores de células germinativas do ovário.

Unitermos: neoplasias do ovário; imuno-histoquímica

Introdução

Os tumores malignos de células germinativas compreendem 3 a 4% de todas as neoplasias malignas do ovário. Apesar de uma incidência baixa, são tumores de importância clínica relevante por acometerem, principalmente, crianças e mulheres jovens [1].

Os estudos imuno-histoquímicos dos tumores de células germinativas, para identificação de marcadores tumorais, começaram há mais de uma década [2, 3] e continuam, até hoje, com a disponibilidade de maior número e especificidade de anticorpos produzidos contra uma variedade de componentes e produtos celulares [4]. Entre esta variedade de substâncias, potencialmente marcadoras de tumor de células germinativas, estão a enolase neurônio-específica (NSE), a alfa-1-antitripsina (AAT) e a alfa-1-antiquimotripsina (AAQT).

A NSE é uma isoenzima da enzima glicolítica 2-fosfo-D-glicerato hidrolase, que é encontrada em te-

cidos nervosos e neuroendócrinos, porém já tendo sido demonstrada em vários outros tecidos humanos [5]. É considerada um marcador para tumores de origem neuroendócrina [6]. Com esta mesma finalidade, foi relatado seu uso para carcinoma de pequenas células de pulmão [7]. Em tumores de células germinativas, a NSE foi demonstrada em seminoma do testículo [8] e em disgerminoma e teratoma do ovário [9].

A AAT e a AAQT são duas proteínas que possuem atividade antiproteolítica e estão distribuídas no fígado, pâncreas e mucosa gastrointestinal [10, 11]. O significado biológico da ocorrência destas proteínas em tecidos tumorais não é bem conhecido. Elas têm sido demonstradas em tumores do trato gastrointestinal [12] e de glândulas salivares [13]. A identificação da AAT em tumores de células germinativas, por Palmer et al. [2], representa uma das primeiras caracterizações desta proteína como marcador tumoral.

O objetivo deste estudo é verificar, através da imuno-histoquímica, a expressão destas proteínas

¹Pós-graduando do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia; ²Docente do Departamento de Patologia. Endereço do autor para correspondência: Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP) - Ribeirão Preto, SP - CEP 14049

(NSE, AAT e AAQT) em tumores malignos de células germinativas do ovário.

Material e Métodos

O estudo foi realizado com 14 tumores malignos de células germinativas do ovário registrados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP (Departamentos de Ginecologia e Obstetrícia e de Patologia). Os tipos histológicos foram classificados de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde [14], ficando assim distribuídos: sete disgerminomas, três tumores do seio endodérmico, três teratomas imaturos e um coriocarcinoma.

Todas as reações imuno-histoquímicas foram realizadas em tecido previamente fixado em formol e embebido em parafina. Foi utilizado o método peroxidase-antiperoxidase (PAP), descrito por Sternberger [15], com algumas modificações para atender às necessidades do laboratório de Patologia (HC-FMRP). Cortes de 5 mm foram desparafinizados em xilol e hidratados numa bateria de álcool, em seguida os cortes foram lavados com água destilada e salina fosfato tamponado (PBS), pH 7,2-7,4 e tratados com água oxigenada (H_2O_2) a 3% e metanol a 3% em PBS, por 10 minutos. Após lavados com PBS, foram cobertos com 0,5 mg/ml de tripsina diluída em tampão TRIS 0,05M, pH 7,8 (exceto para as reações com AAT). Em seguida, os cortes foram tratados com soro normal de camundongo ou coelho, por 30 minutos e, posteriormente, incubados por 1 hora em câmara úmida a 25°C, com os anticorpos policlonais anti-NSE na diluição de 1:200, AAT na diluição de 1:400 e AAQT na diluição de 1:400, todos provenientes de Dakopatts, Dinamarca. Após a lavagem dos cortes em PBS, foi adicionado o anticorpo de ligação cabra anticoelho

na diluição de 1:500 e, depois de 30 minutos de incubação, procedeu-se nova lavagem. A incubação seguinte foi feita com o complexo PAP (soro de cabra anticoelho conjugado com peroxidase) na diluição de 1:40. Finalmente, os sítios imunorreativos foram revelados pela imersão dos fragmentos em solução contendo 3,3-diaminobenzidina-HCl a 0,0125% e H_2O_2 a 0,002% em tampão TRIS-HCe, pH 7,6. Os cortes foram desidratados em álcool, contracolorados com hematoxilina e montados. Foram empregados controles positivo e negativo para excluir reações inespecíficas causadas pelo método ou por inespecificidade dos anticorpos.

O critério utilizado para avaliação foi subjetivo quali/quantitativo para definir intensidade da reação: reação negativa (-), reação fracamente positiva (+), reação moderadamente positiva (++) e reação fortemente positiva (+++/++++).

Resultados

Todos os disgerminomas expressaram a NSE. Em seis casos foram reações fracamente positivas e, em um, reação moderadamente positiva. Os três tumores do seio endodérmico expressaram NSE com uma intensidade moderada. Os teratomas imaturos expressaram NSE, principalmente nas áreas de tecido nervoso (Figura 1). O coriocarcinoma foi o único tipo histológico que não expressou a NSE.

Com relação à AAET e AAQT, todos os tumores expressaram estas proteínas, com reações moderada a fortemente positivas. Todos estes dados encontram-se na Tabela 1.

Discussão

Todos os tumores malignos de células germinativas do ovário deste estudo, com exceção do corio-

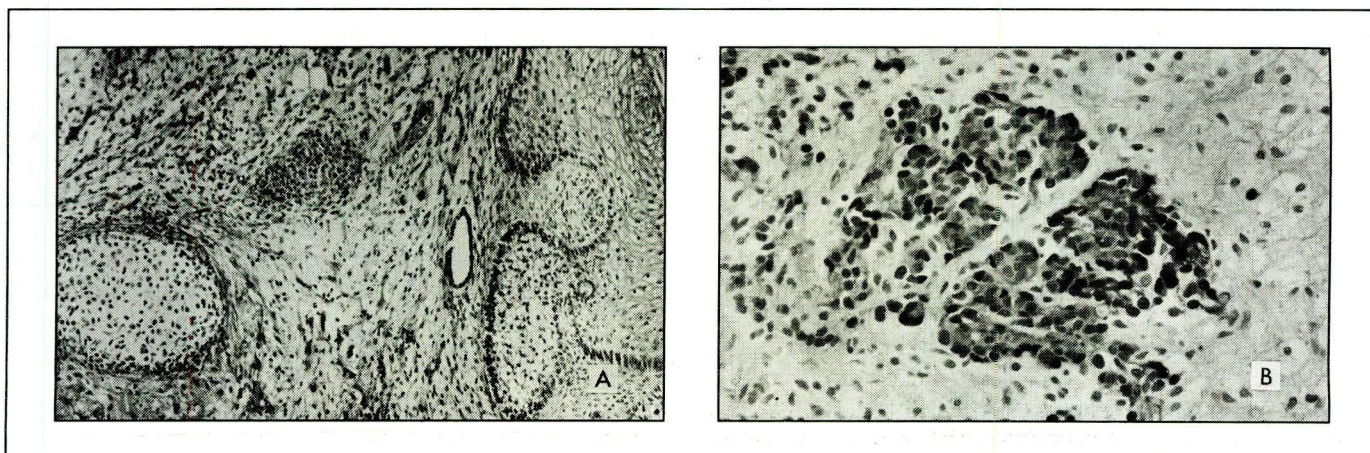


Figura 1A - Teratoma imaturo com evidência de tecido epitelial nervoso e cartilagem (HE, 300x). **B** - Imuno-histoquímica com anticorpo antienolase neurônio específica em tecido nervoso, constituinte de teratoma imaturo (470x).

Tabela 1. Expressão de enolase neuroespecífica (NSE), alfa-1-antitripsina (AAT) e alfa-1-antiquimotripsina (AAQT) em tumores malignos de células germinativas do ovário

Tipo histológico	Anticorpo anti-		
	NSE	AAT	AAQT
Disgerminoma	+	+++	++++
Disgerminoma	+	++++	++++
Disgerminoma	+	++++	+++
Disgerminoma	+	+++	+
Disgerminoma	+	++	+++
Disgerminoma	+	+++	++++
Disgerminoma	+++	++++	+++
Tumor do seio endodérmico	++	++++	++++
Tumor do seio endodérmico	++	++++	++++
Tumor do seio endodérmico	+++	++++	++++
Teratoma imaturo	+++	++++	++++
Teratoma imaturo	+++	++++	++++
Teratoma imaturo	++	++++	++++
Coriocarcinoma	-	++	+++

carcinoma, expressaram NSE. O disgerminoma expressou menos intensamente que o tumor do seio endodérmico e o teratoma imaturo. Niehans et al. [4] encontraram positividade para NSE em tumores de células germinativas de várias localizações, em 84% dos seminomas/disgerminomas, em 81% dos carcinomas embrionários, em 68% dos tumores do seio endodérmico e em 46% dos coriocarcinomas (áreas focais positivas). Kawata et al. [9] demonstraram a presença de NSE em disgerminoma e teratoma do ovário. Estes autores encontraram também aumento dos níveis séricos desta proteína em quatro de oito pacientes com teratoma e em cinco de seis pacientes com disgerminoma. Kuzmits et al. [8] já haviam demonstrado a utilização da NSE como um marcador sérico, para monitorização de tratamento, em seminoma de testículo.

Tanto AAT como AAQT foram expressados pelos diversos tipos histológicos de tumores de células germinativas do ovário, que foram estudados. A maioria das reações foram fortemente positivas para estas duas proteínas. Palmer et al. [2] caracterizaram a AAT como uma proteína de marcação tumoral, ao demonstrar a sua presença em tecido e soro de pacientes com tumor do seio endodérmico. Observaram também um paralelismo entre esta proteína e a alfa-fetoproteína, conhecidamente o mais importante marcador para o tumor do seio endodérmico. Niehans et al. [4] encontraram expressão de AAT em tumores de células germinativas primários e metastáticos. Apesar de desconhecida a função da AAT e AAQT, sua presença em tecidos tumorais pode sugerir um mecanismo de controle para prevenir a degradação

celular, durante o crescimento neoplásico [13].

Os achados deste estudo mostram que os tumores malignos de células germinativas do ovário expressam NSE, AAT e AAQT. Sugerem ainda que estas proteínas, apesar de inespecíficas, podem ser mais um marcador para estes tumores. Como podem ser dosadas no soro, poderão ser úteis para o controle da resposta terapêutica e seguimento das pacientes com tumor maligno de células germinativas do ovário.

Summary

An immunohistochemical study for the presence of neuron-specific enolase (NSE), alfa-1-antitrypsin (AAT) and alfa-1-antichymotrypsin (AAQT) in germ cell tumor of the ovary was realized. The immunohistochemical stains were performed on paraffin-embedded tissue of seven dysgerminomas, three endodermal sinus tumors, three imature teratomas and un choriocarcinoma. NSE reactivity was identified in all tumors except choriocarcinoma. All histologic types of tumors showed positive reactions for AAT e AAQT. This data indicates that NSE, AAT e AAQT may be tumor markers for germ cell tumors of the ovary.

Key words: ovarian neoplasms; immunohistochemistry

Referências bibliográficas

1. KURMAN RJ, NORRIS HJ. Malignant germ cell tumors of the ovary. *Human Pathol* 1977; 8(5): 551-564.
2. PALMER PE, SAFAH H, WOLFE HJ. Alpha-1-antitrypsin and alpha-fetoprotein. Protein markers in endodermal sinus (yolk sac) tumors. *Am J Clin Pathol* 1976; 65: 575-582.
3. KURMAN RJ, SCARDINO PT, McINTIRE R, WALDMANN TA, JAVADPOUR N. Cellular localization of alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotropin in germ cell tumors of the testis using an indirect immunoperoxidase technique. A new approach to classification utilizing tumor markers. *Cancer* 1977; 40(5): 2136-2151.
4. NIEHANS GA, MARIVEL C, COPLAND GT, SCHEITHAVER BW, WICK MR. Immunohistochemistry of germ cell and trophoblastic neoplasms. *Cancer* 1988; 62(6): 1113-1123.
5. HAIMOTO H, TAKAHASHI Y, KOSHIKAWA T, WAGURA H, KATO K. Immunohistochemical localization of Enolase in normal human tissues other than nervous and neuroendocrine tissues. *Lab Invest* 1985; 52(3): 257-263.
6. PRINZ RA, MARANGOS PT. Use of neuron-specific enolase as a serum, marker for neuroendocrine neoplasms. *Surgery* 1982; 92: 887-889.
7. CARNEY DN, MARANGOS PJ, IHDE DC, BUNN PA, COHEN MH, MINNA JD, GAZDAR AF. Serum neuron-specific enolase: A marker for disease extent and response to therapy of small-cell lung cancer. *Lancet* 1982; 583-585.
8. KUZMITS R, SCHERNTHANER G, KRISCH K. Serum neuron-specific Enolase. A marker for response to therapy in seminoma.

- Cancer 1987; 60(5): 1017-1021.
9. KAWATA M, SEKIYA S, HATAKEYAMA R, TAKAMIZAWA H. Neuron-specific Enolase as a serum marker for immature teratoma and dysgerminoma. *Gynecol Oncol* 1989; 32: 191-197.
 10. GAULDIE J, LAMONTAGNE L, HORSEWOOD P, JENKINS E. Immunohistochemical localization of alfa-1-antitrypsin in mouse liver and pancreas. *Am J Pathol* 1980; 101: 723-735.
 11. KITTAS C, ARONI K, MATANI A, PAPADIMITRION CS. Immunocytochemical demonstration of alfa-1-antichymotrypsin in human gastrointestinal tract. *Hep Gastroenterol* 1982; 29: 275-277.
 12. KITTAS C, ARONI K, KOTSIS K, PAPADIMITRION CS. Distribution of lysozime, alfa-1-antichymotrypsin and alfa-1-antitrypsin in adenocarcinomas of the stomach and large intestine. *Virchows Arch "A"* 1982(b); 398: 139-147.
 13. MURASE N, KOBAYAASHI K, MITANI H, MORI M. Immunohistochemical localization of alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotrypsin in salivary pleomorphic adenomas. *Virchow Arch "A"* 1985; 408: 107-116.
 14. SEROV SS, SCULLY RE, SOBIN LH. Histological typing of ovarian tumors. *International histological classification of tumors. Vol. 9, Geneva, WHO, 1979.*
 15. STERNBERGER LA. *Immunocytochemistry, 2nd ed., New York, Wiley and Sons, 1979.*

Carcinoma de células transicionais da pelve renal e do ureter

JOSE PASCOAL CORTEZ¹, CARLOS HERMANN SCHAAL¹, RENATO PRADO COSTA²

Trabalho realizado no Serviço de Urologia do Hospital Oncológico Amaral Carvalho - Jaú - São Paulo.

Resumo

No período de 1976 a 1990, 14 pacientes com tumor de células transicionais do trato urinário superior foram tratados no Serviço de Urologia do Hospital Oncológico Amaral Carvalho.

Destes tumores, sete foram encontrados na pelve renal e sete em ureter distal. O tratamento de escolha para esses tumores foi a nefroureterectomia, com retirada de cone vesical, perimeatal. Em um caso de tumor de ureter, com baixo grau e estadiamento, foi realizada ureterectomia segmentar.

Unitermos: carcinoma de células transicionais; tumor de pelve renal; tumor de ureter

Introdução

Os tumores de pelve renal e ureter são relativamente raros, principalmente quando comparados com a freqüência dos tumores de bexiga [1, 2, 4, 9, 13, 14]. O carcinoma de células transicionais de pelve renal tem freqüência de 7% de todos os tumores renais e 5% de todos os tumores uroteliais [18, 24]. Os tumores de ureter têm uma incidência de 2-4% dos tumores uroteliais e aparecem com maior freqüência no ureter baixo [2, 10].

A presença de câncer de células transicionais do trato urinário superior implica na probabilidade de 30-50% de desenvolvimento posterior de carcinoma de células transicionais de bexiga [17, 19, 22]. Quando se encontram presentes câncer de pelve renal e ureter, simultâneos, a probabilidade de desenvolvimento posterior de câncer de bexiga aumenta para 75%, com localização ipsilateral à lesão da via superior. Isso sugere que a implantação de células desprendidas do tumor proximal seja responsável pelo aparecimento do tumor vesical [10, 26].

Varios fatores etiológicos têm sido propostos para o aparecimento desses tumores, incluindo ilhotas congênitas na mucosa, litíase, alterações inflamatórias, tabaco e produtos industriais [9, 13, 20]. Existe

associação entre ingestão de compostos analgésicos, como fenacetina, fenazona e cafeína, e câncer de pelve e ureter, pois 50% dos pacientes portadores desses tumores têm história de ingestão crônica destes produtos [2, 10, 13]. Também os pacientes com nefropatia dos Bálcãs (inflamação lentamente progressiva do interstício renal, que aparece na Iugoslávia, Romênia, Bulgária e Grécia) desenvolvem tumor das vias urinárias superiores, de crescimento lento e superficial [8, 10, 16, 25].

A freqüência dos tumores de células transicionais do trato urinário superior é maior nos homens, na proporção de 2-1 em relação às mulheres.

É mais freqüente na 7ª década, com 80% dos pacientes variando entre 40 e 80 anos [9, 20]. A manifestação clínica mais freqüente é a hematúria macro ou macroscópica, com ou sem dor [2, 3, 8, 17, 19, 22].

Pacientes e Métodos

De 1976 a 1990, 14 pacientes com carcinoma de células transicionais de pelve renal ou ureter foram tratados em nosso serviço. A localização, estadiamento terapêutica e acompanhamento estão na Tabela 1.

¹Médico Assistente do Serviço de Urologia de Hospital Oncológico Amaral Carvalho; ²Médico Chefe do Serviço de Urologia do Hospital Oncológico Amaral Carvalho

Tabela 1. Localização, estadiamento e seguimento dos pacientes com tumor de pelve renal e ureter

Nº	Idade	Sexo	Cor	Localização	Estadiamento	Grau	Procedimento	Sobrevida	Observações
1	55	M	B	Ureter distal E	A	II	Nefroureterectomia + linfadenectomia aortoilíaca	10 anos	Sem doença
2	69	M	B	Ureter distal E com comprometimento de meato	C	II	Radioterapia 5.000 rads. Tumor inoperável	-	Perda de follow-up após 6 meses
3	77	M	B	Ureter distal D com comprometimento de meato	B	II	Ureterectomia com cone vesical	-	Óbito por embolia pulmonar no PO; cinco anos antes havia sido submetido a nefrectomia por tumor de pelve, estágio I, grau II, fora do serviço
4	61	M	B	Ureter distal D + fundo vesical	D	II	Nefroureterectomia com cone vesical + linfadenectomia	-	Óbito um mês após a cirurgia, por tumor gástrico com linfonodos aórticos comprometidos
5	62	M	B	Ureter distal D	A	II	Ureterectomia segmentar, com reimplante ureteral	36 meses	Sem doença
6	69	M	B	Ureter distal E	C	II	Nefroureterectomia + radioterapia c/ 5.000 rads.	30 meses	Sem doença
7	60	M	B	Pelve D	I	II	Nefroureterectomia	10 anos e 6 meses	Sem doença
8	60	M	B	Pelve D	IV	III	Quimioterapia com M-VAC	-	Óbito no segundo ciclo de M-VAC
9	66	M	B	Pelve E	III	I	Nefroureterectomia	18 meses	Sem doença
10	52	M	B	Pelve D	III	III	Nefroureterectomia + radioterapia c/ 5.000 rads.	8 anos	Sem doença
11	72	F	B	Pelve D	III	III	Nefroureterectomia + radioterapia c/ 5.000 rads.	-	Óbito durante radioterapia
12	73	F	B	Pelve E	IV	II	Radioterapia c/ 5.000 rads.	12 meses	Óbito por ICC sem tumor
13	68	M	B	Pelve E	II	II	Nefroureterectomia	5 anos	Um ano após a cirurgia, apresentou carcinoma papilífero de bexiga, sendo submetido a cistoprostatovesicuclectomia
14	73	M	B	Ureter E, bexiga	B III	II II	Nefroureterectomia + cistoprostatovesicuclectomia + linfadenectomia	-	Óbito por embolia pulmonar

Doze pacientes eram do sexo masculino e dois do sexo feminino. A idade variou de 55 a 77 anos (média de 66,2 anos).

Destes pacientes, oito foram submetidos à nefroureterectomia radical com retirada do cone vesical por via transvesical e linfadenectomia homolateral.

Dois pacientes foram submetidos a radioterapia (5.000 rads), por apresentarem tumor inoperável.

Um paciente operado em outro serviço apresentou recidiva no coto ureteral, cinco meses após a nefrectomia, com metástases ganglionares, sendo submetido a quimioterapia com M-VAC.

Um paciente apresentou tumor gástrico concomitantemente e um outro apresentou tumor de ureter e vesical infiltrativo concomitante, sendo submetido a nefroureterectomia com cistoprostatovesiculectomia, linfadenectomia aorto-iliaca e neobexiga ileal.

O estadiamento empregado para tumor de pelve é o proposto por Grabstald et al. [11] e o de ureter é o proposto por Batata et al. [3] (Tabela 2).

Tabela 2 Estadiamento do tumor de pelve renal e ureter, segundo Grabstald et al. [11] e Batata et al. [4].

Tumor de pelve		Tumor de ureter	
Estádio		Estádio	
I	Restrito à mucosa	0	Restrito à mucosa
II	Invade a submucosa	A	Invade a submucosa
III	Invade tecido muscular e/ou tecido renal	B	Invade muscular/adventícia
IV	Invade tecidos adjacentes/ou gânglios e/ou metástases à distância	C	Invade órgãos adjacentes/gânglios
		D	Apresenta metástases à distância

Resultados

Em todos os casos suspeita diagnóstica foi complementada pela urografia excretora e pielografia retrógrada.

A sobrevida e a recorrência estão na Tabela 1. A sobrevida, de acordo com o grau histológico e estadiamento patológico, é superponível aos dados da literatura (Tabela 3).

Tabela 3 Correlação entre sobrevida em cinco anos por estágio e grau histológico do tumor desta série em comparação com a literatura [4, 6].

Grau histológico	Cortez et al., 14 pacien- tes	Aloon et al., 54 pacien- tes [6]	Batata et al., 41 pacien- tes [4]
	Pacientes (%)	%	%
I	1/1 (100)	83,0	78,0
II	5/10 (50)	52,0	50,0
III	1/3 (33,3)	18,0	0
IV	0	12,0	0
Estadiamento patológico			
0,A (I, II)	4/4 (100)	62,0	91,0
B (III)	2/5 (40)	50,0	43,0
C (XIV)	1/3 (33,3)	33,3	23,0
D (IV)	0/2	0	0

Discussão

Os tumores de células transicionais do trato urinário superior são relativamente raros, mas têm sido encontrados com frequência crescente [3, 13, 23]. A urografia intravenosa tem sido de grande valia no diagnóstico desses tumores, principalmente quando suplementada com ureteropielografia retrógrada [3, 11, 17, 22]. A urografia intravenosa também tem sido responsável pelos achados incidentais de tumores do trato superior [17]. A alteração radiológica observada em 77% dos casos é a falha de enchimento do bacinete ou do ureter [9]. A ultra-sonografia e a tomografia axial computadorizada têm valor no estadiamento clínico da doença, porém são menos efetivas no diagnóstico [9].

O estadiamento e o grau desses tumores são muito importantes para a avaliação da sobrevida dos pacientes [4, 14, 16, 17, 19], por isso alguns autores observaram que quando o tumor é bem diferenciado e não invade a musculatura, a ressecção conservadora oferece boa chance de sobrevida, tanto quanto a nefroureterectomia. Também observaram que o risco de recorrência no urotélio conservado é de 3% quando o tumor original é solitário e de 50% naqueles casos em que o tumor original é multifocal [16]: há descrição de recorrência de papiloma de pelve renal em coto ureteral 30 anos após nefrectomia [9].

A sobrevida destes pacientes e a recorrência desses tumores não dependem da localização do tumor (pelve, ureter alto ou baixo), mas dependem do grau e estágio, e se o tumor é único ou multifocal [17].

Com o advento da ureterorenoscopia, consegue-se saber, através das biópsias e da citologia com escova, o grau desses tumores antes da cirurgia [3, 8, 11, 27]. A cistoscopia é um procedimento obrigatório, devido à elevada incidência de tumor vesical asso-

ciada aos tumores do trato urinário alto [8].

A citofluxometria tem mostrado correspondência entre o ADN ploide e o grau histológico, estadiamento e evolução clínica desses tumores, sendo de grande valia quando nos deparamos com tumores de baixo grau e baixo estadiamento, pois se eles apresentam poliploidia, apresentarão também mau prognóstico, necessitando de cirurgia radical, apesar da baixa agressividade aparente [5].

A nefroureterectomia com retirada de cone vesical perimeatal transvesical tem sido o tratamento de escolha para os tumores do trato urinário superior, que oferece 80% de sobrevida nos tumores de baixo grau e baixo estadiamento [8, 17, 18, 22]. A retirada do cone vesical pela via transvesical é necessária, pois há um importante estudo que demonstra a sua necessidade. Nesse estudo, em uma série de nove casos descritos pelo cirurgião, como retirada completa do cone vesical e meato, constatou-se posteriormente, pela cistoscopia, a presença do meato nos nove casos operados [22].

Alguns autores apresentam experiências positivas com cirurgia extracorpórea e autotransplante do rim ipsilateral ao tumor, com seguimento de até 65 meses em tumores de baixo grau e baixo estadiamento [4, 18, 27].

O uso da radioterapia como única forma de tratamento não tem base sólida e estatística confiáveis, tendo sido visto com otimismo por alguns autores e com ceticismo por outros, necessitando de maiores estudos para se firmar como alternativa terapêutica [7, 8]. Já a radioterapia complementar, pós-operatória, tem sido muito utilizada, nos casos de resíduo tumoral e nos pacientes com estádios C, com bom

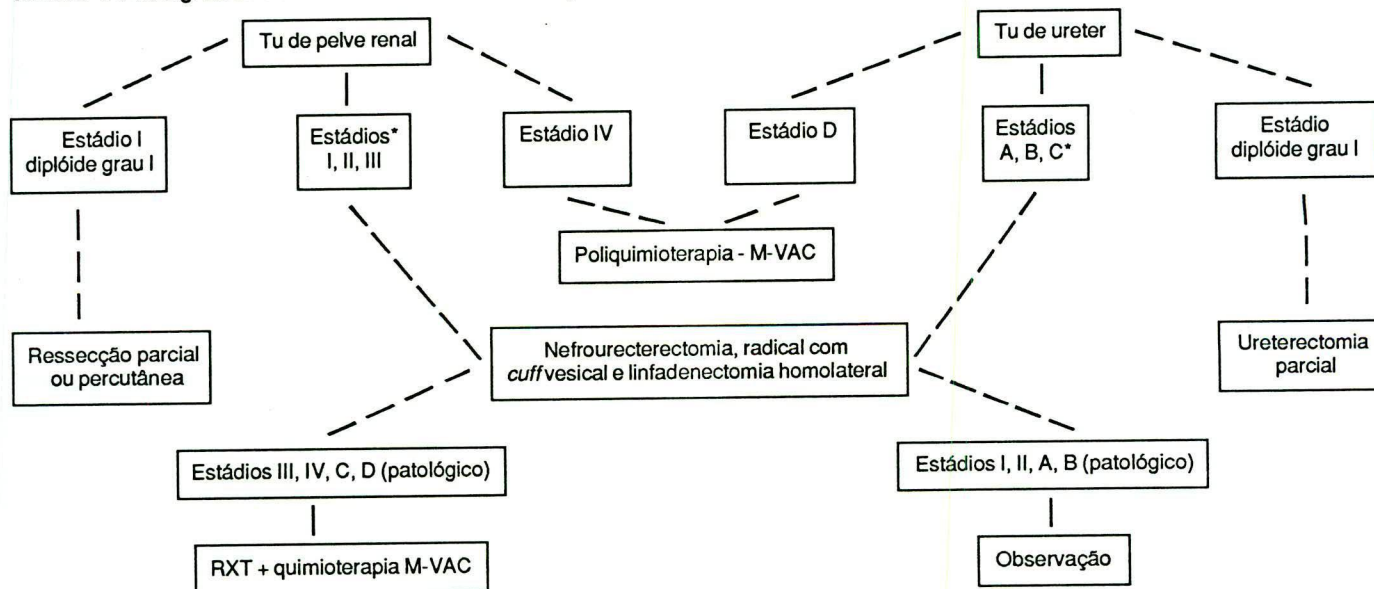
controle loco-regional, pois de nove pacientes estágio C, com radioterapia pós-operatória, nenhum apresentou recidiva local, mas quatro (44%) pacientes apresentaram metástases à distância [3]. Por isso, incluímos em nosso protocolo a radioterapia e a poliquimioterapia adjuvante com M-VAC nos tumores estádios IV/C e como única forma de tratamento nos estádios IV/D. Há regressão objetiva do tumor, porém a curto prazo, em 53 a 89% dos casos [21].

Devido ao sucesso e à popularidade do uso da ureterorenoscopia e das cirurgias percutâneas, tais procedimentos têm conquistado seu espaço no tratamento dos tumores do trato urinário superior, através da coagulação endoscópica com laser e da ressecção endoscópica percutânea, nos casos de lesão superficial, de baixo grau, e diploidia [12, 15, 25]. Nós temos, porém, experiência com esta modalidade terapêutica.

Apesar dos bons resultados com as diversas possibilidades terapêuticas já descritas para os tumores de células transicionais do trato urinário superior, e apesar da grande porcentagem de sobrevida desses pacientes após cinco anos, há necessidade de cuidadoso acompanhamento, porque esses tumores apresentam cerca de 33% de tumores sincrônicos (três meses) ou metacrônicos (mais de seis meses) em bexiga, independente do grau ou do estadiamento [19].

Como não há disponibilidade da citofluxometria para a maioria dos pacientes, devemos encarar estes tumores sempre como agressivos, a despeito do seu grau histológico e estágio, devendo ser realizada cirurgia conservadora apenas em casos muito selecionados (Tabela 4).

Tabela 4 Fluxograma de tratamento do tumor de pelve renal e ureter



*Cirurgia conservadora somente nos casos de rim único, pobre função renal ou tumor bilateral.

Summary

From 1976 to 1990, 14 patients with transitional cell carcinoma of upper urinary tract were treated at the urologic Service of Oncologic Hospital Amaral Carvalho. The treatment of choice for these tumors was nephroureterectomy with excision of a bladder cuff. In one case of low grade, without invasive ureteral tumor, the treatment was the partial ureterectomy

KEY WORDS: *transitional cell carcinoma; renal pelvis tumor; ureteral tumor*

Referências Bibliográficas

- AKAZA H, KOISO KT. Clinical evaluation of urothelial tumors of the renal pelvis and ureter based on a new classification system. *Cancer* 1987; 59: 1369.
- ANDERSTROM C, JOHANSSON SL, PETERSSON S, WAHLQVIST L. Carcinoma of the ureter: a clinicopathologic study of 49 cases. *J Urol* 1989; 142: 280.
- BATATA MA, WHITMORE WF, HILARIS BS, TOKITA N, GRABSTALD H. Primary carcinoma of the ureter: prognostic study cancer 1975; 35: 1626.
- BASEED MA, SCHARFE T, BECHT E, AIKEN P, THUROFF JW. Local excision of urothelial cancer of upper urinary tract. *Eur Urol* 1986; 12: 89.
- BLUTE ML, TSUHIMA K, FARROW GM, THERNEAU TM, LIEBER MM. Transitional cell carcinoma of the renal pelvis: Nuclear deoxyribonucleic acid ploidy studied by flow cytometry. *J Urol* 1988; 140: 944.
- BLOOM MA, VIBONE RA, LYTTON B. Primary carcinoma of the ureter: A report of 102 new cases. *J Urol* 1970; 103: 590.
- BROOKLAND RK, RICHETER MP. The postoperative irradiation of transicional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *J Urol* 1985; 133: 952.
- COUTINHO A, MATOS HF. Câncer de células transicionais do trato urinário superior. *J Bras Urol* 1988; 14: 90.
- DOUNIS A, MITROPOULOS D. Recurrence of papilloma of renal pelvis on ureteral stump thirty years after nephrectomy. *Urology* 1988; 32: 50.
- DROLLER MJ. Transitional Cell Cancer: Upper Tracts and Bladder. In: Patrick WS, Campbel's Urology. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1986: 1343.
- GRABSTALD H, WHITMORE WF Jr., MELAMED MR. Renal pelvic tumors. *JAMA* 1971; 281: 845.
- HUFEMAN JL, MORSE MJ, HERR HW, WHITMORE WF. Consideration for treatment of upper urinary tract with topical therapy. *Suppl Urol* 1985; 26: 47.
- NIELSEN K, OSTRI P. Primary tumors of the renal pelvis: evaluation of clinical and pathological features in a consecutive series of 10 years. *J Urol* 1988; 140: 19.
- KIRKALI Z, MOFFAT LEF, DEANE RF, KYLE KF, GRAHAN AG. Urothelial tumors of the upper urinary tract. *Br J Urol* 1989; 64: 18.
- MARSHALL FF, WALSH P. *In situ* management of renal tumors renal cell carcinoma and transitional cell carcinoma. *J Urol* 1984; 131: 1045.
- MUFTI GR, GOVE JRW, BADENOCH DF, FOWTER CG, TIPTAFT RG, ENGLAND HR, PARIS AMI, SINGH M, HALL MH, BLANDY JP. Transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *Br J Urol* 1989; 63: 135.
- NOCKS BN, HENEY NM, DALY JJ, PERRONE TA, GRIFFIN PP, PRODUT GR. Transitional cell carcinoma of renal pelvis. *Urology* 1982; 19: 472.
- PETERSSON S, BRYNGER H, HENRIKSSON C, JOHANSSON SL, NILSON AE, RANCH T. Treatment of urothelial tumors of the upper urinary tract by nephroureterectomy, renal transplantation, and pyelocystostomy. *Cancer* 1984; 54: 379.
- REITELMAN C, SAWCZUK IS, PUCHNER PJ, BENSON MC. Prognostic variables in patients with transitional cell carcinoma of the renal pelvis and proximal ureter. *J Urol* 1987; 138: 1144.
- ROSA TT, VEIGA JPR, PORTELA MPSC. Carcinoma de células transicional. Relato de caso. *J Bras Urol* 1986; 12: 231.
- STERNBERG CN, YAGODA A, SCHER HI, WATSON RC, AHMED T, WEISENBERG LR, GELLER N, HOLLANDER PS, HERR SOGANI PC, MORSE MJ, WHITMORE WF. Preliminary results of M-VAC (methotrexate, vimblastine, doxorubicin and cisplatin) for transitional cell carcinoma of the urothelium. *J Urol* 1985; 133: 403.
- STRONG DW, PEARSE HD. Recurrent urothelial tumors following surgery for transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. *Cancer* 1976; 38: 2178.
- TOMERA KM, LEARY FJ, ZINCKE H. Pyeloscopy in urothelial tumors. *J Urol* 1982; 127: 1088.
- WALLACE DMA, WALLACE DM, WHITFIELD HN, HENDRY WF, WICKHAM JEA. The late results of conservative surgery of upper tract urothelial carcinomas. *Br J Urol* 1981; 53: 537.
- WOODHOUSE CRJ, KELLETT MJ, BLOOM HJG. Percutaneous renal surgery and local radiotherapy in the management of renal pelvic transitional cell carcinoma. *Br J Urol* 1986; 58: 245.
- ZINCKE H, SWANSON SK. Bilateral renal cell carcinoma: Influence of synchronous and asynchronous occurrence on patient survival. *J Urol* 1982; 128: 913.
- ZINCKE H, SEN SE. Experience with extracorporeal surgery and autotransplantation for renal cell and transitional cell cancer of the kidney. *J Urol* 1988; 140: 25.
- ZINCKE H, NEVES RJ. Fessibility of conservative surgery for transitional cell cancer of the upper urinary tract. *Urol Clin North Am* 1984; 4: 717.

INCaRegistro

Instituto Nacional de Câncer

REGISTRO HOSPITALAR DE CÂNCER

O QUE É REGISTRO HOSPITALAR DE CÂNCER

A necessidade de dispor de um sistema de informações em cancerologia, levou à coordenação de esforços de diferentes países em relação ao controle de câncer, através da Organização Mundial de Saúde, em colaboração com outros organismos, como a UICC, a procurar uma linguagem comum que permitisse a comparabilidade das informações geradas em distintos lugares. Surgiu, assim, entre outras iniciativas, a criação dos registros de câncer, tanto de base populacional quanto hospitalar.

Os registros de câncer tem como principal objetivo contribuir para a ação de controle de câncer, indicando a dimensão do problema, a distribuição das doenças nos vários seguimentos da população, em órgãos envolvidos com maior frequência e a sobrevivência dos pacientes. Alguns destes propósitos são específicos de registros de base populacional e outros, como a sobrevivência, são fornecidos pelos registros de base hospitalar.

O Registro Hospitalar de Câncer constitui uma das fontes de informação em câncer, utilizando

do o processo de coleta contínua e sistemática de dados, da ocorrência e das características, das neoplasias malignas em um hospital. Por ser um processo contínuo, se destingue de levantamento feito ocasionalmente, com o objetivo de conhecer a abrangência da doença; por ser uma ação sistemática, implica na cobertura de todas as possíveis fontes de informações.

O Registro Hospitalar de Câncer notifica os casos de neoplasia maligna dentro de um hospital, verifica e processa essas informações, com a finalidade prioritária de contribuir para a melhoria da assistência médica prestada ao paciente, bem como, desenvolver o aprofundamento no conhecimento das características dos tumores no que diz respeito, ao diagnóstico, ao tratamento

administrado e a evolução da doença; e ainda, contribui de forma importante para o planejamento das atividades hospitalares e o incentivo a melhoria da qualidade das informações dos prontuários médicos.

O Registro Hospitalar de Câncer possui um papel importante em nível hospitalar na troca de informações inter-institucionais permitindo estudos colaborativos e formando um sistema de informações sobre o câncer.

Distribuição das neoplasias por topografia segundo o sexo

Localização	Masc.	Fem.	Total	Perc.
Pele	1462	1241	2703	17.0
Mama Feminina	0	2474	2474	15.6
Colo de útero	0	1610	1610	10.1
Boca (140 - 146)	1168	381	1549	9.8
Pulmão, bronquios e traquéia	1032	234	1266	8.0
Laringe	609	85	694	4.4
Linfonodos	280	169	449	2.8
Esôfago	314	109	423	2.7
Reto, canal anal e ânus	141	224	365	2.3
Endométrio	0	335	335	2.1
Outros	2380	1615	3995	25.2
TOTAL	7396	8477	15863	100.0
	(46.6%)	(53.4%)	(100.0%)	

Fonte: RHC/INCa. 1965 - 1966 - 1967 - 1968 - 1969

Resistência a múltiplas drogas: um problema da clínica oncológica com solução na pesquisa básica

LUDMILA S. MEDINA DA CUNHA¹, FERNANDO MEDINA DA CUNHA¹, MARY DA SILVA THEREZA¹, REGINA A. MARTINHO¹, ANDRÉ AUGUSTO Jr. G. MORAES¹, RICARDO LIMA ZOLINER²

Trabalho realizado pelas disciplinas de Oncologia Clínica e Imunologia Clínica do Departamento de Clínica Médica da UNICAMP/SP

Resumo

A resistência que as células neoplásicas apresentam aos agentes quimioterápicos sempre é um grande problema para o oncologista clínico. A descoberta da glicoproteína (170 Pgp) responsável pela resistência a múltiplas drogas (MDR) abriu novas perspectivas de se superar este difícil tipo de resistência. Neste trabalho, apresentamos uma retrospectiva do trabalho de pesquisa realizado até a definição do modelo que hoje rege os trabalhos clínicos no emprego de agentes reversores da MDR.

Unitermos: quimioterapia - resistência a múltiplas drogas

Introdução

A capacidade das células neoplásicas desenvolverem resistência aos quimioterápicos é a razão do insucesso da maioria dos tratamentos antineoplásicos desde o início de seu emprego no combate ao câncer.

A pesquisa contínua de novas drogas cada vez mais potentes não tem melhorado os índices de cura para a grande maioria dos tumores, ficando as melhores estatísticas restritas a tumores de testículo, leucemias linfoblásticas agudas da infância e linfomas difusos. Nas neoplasias mais freqüentes da prática clínica consegue-se uma resposta na indução do tratamento, a qual mais cedo ou mais tarde é seguida de recidiva e progressão do tumor a despeito da introdução de outras drogas.

O advento da utilização combinada de drogas, esquematizando a dose e a freqüência da administração, foi a solução clínica encontrada para tentar reduzir a possibilidade do surgimento de populações celulares resistentes. Contudo, ainda não se dispõe de uma abordagem terapêutica dirigida especificamente para os mecanismos de resistência celular. O

estudo de cada um destes mecanismos torna-se prioridade no direcionamento para a obtenção de melhores índices de cura.

Podemos dividir o fenômeno de resistência basicamente em dois tipos: primeiro, a resistência *de novo*, aquela que já se observa nas células tumorais quando passam pelo processo de malignização. Em outras palavras, é a resistência intrínseca encontrada, por exemplo, em tumores de cólon, adenocarcinoma de pulmão e hipernefomas. O segundo tipo é a resistência adquirida, aquela que ocorre após a exposição das células e agentes citotóxicos. Vários mecanismos celulares são responsáveis pela formação de clones residuais de células resistentes, que são usualmente refratárias a uma nova combinação de drogas antineoplásicas.

A solução está na pesquisa oncológica básica. O estudo das linhagens celulares tumorais e seus mecanismos de resistência propiciarão o encontro da abordagem terapêutica que permita superá-los. Foi no estudo da resistência adquirida que Biedler e Rihm [1], em 1970, verificaram que linhagens celulares de *hamster*, selecionadas por altos níveis de resistência à actinomicina D, apresentavam resistência

¹Disciplina de Oncologia Clínica; ²Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia. Departamento de Clínicas Médicas - UNICAMP. Endereço do autor para correspondência: Depto. de Clínica Médica - Faculdade de Ciências Médicas (UNICAMP). Cx Postal 1170. Campinas, SP - CEP 13100.

cruzada a algumas drogas estruturalmente não relacionadas, como a vimblastina, vincristina e mitomicina C. Surgia com esta observação um dos mais intrigantes problemas de resistência. Como células expostas a uma só droga poderiam desenvolver resistência a outras com diferentes estruturas químicas e mecanismos de ação? Em vários centros de pesquisas, linhagens celulares de tumores, inclusive humanos, foram induzidas à resistência por exposição contínua a crescentes concentrações de quimioterápicos, como a doxorrubicina, confirmando-se os resultados anteriores. Este padrão de resistência ficou conhecido como resistência a múltiplas drogas (MDR) ou resistência pleotrópica, que no padrão clássico inclui diversas drogas cujo fator comum é o de se tratarem de produtos naturais (Tabela 1).

Tabela 1. Drogas envolvidas na MDR.

Antibióticos:	Mitramicina Actinomicina-D Puomicina Mitomicina-C
Antraciclínas:	Doxorrubicina Daunorrubicina Mitoxantrona
Antimitóticos:	Vincristina Vinblastina Colchicina
Epipodofilotoxinas:	Etoposide Teneposide
Outros:	Emetina Gramicidina D Taxol

Observou-se que a resistência entre as drogas envolvidas no fenômeno poderia apresentar um padrão quantitativo diverso, ou seja, uma linhagem celular seria mais resistente a uma droga que a outra, mas a propriedade de resistência permanecia qualitativamente inalterada, sempre envolvendo as mesmas drogas, independentemente de qual delas tivesse sido usada como agente indutor da resistência (colchicina, alcalóides da vinca, antraciclínas ou epipodofilotoxinas).

Ling e cols. [2, 3] foram os primeiros a observar que a MDR estava associada a um decréscimo no acúmulo intracelular da droga. Seus estudos também permitiram identificar a presença de uma glicoproteína associada a membrana plasmática, de aproximadamente 170.000 daltons (170 Pgp, 170 P-glicoproteína) nas células resistentes e que estava ausente nas linhagens celulares originais e sensíveis.

Formaram-se, então, duas linhas de pesquisas concomitantes: a do próprio Ling [4, 5], demonstrando que o conteúdo da 170 P-glicoproteína nas células poderia estar diretamente relacionado, tanto com o grau de redução de acúmulo intracelular da droga, como também com o grau de resistência a esta mesma droga pelas células. Ao conhecimento de que a entrada na célula, dos quimioterápicos em questão, se faz por difusão, somou-se a demonstração de que os inibidores metabólicos ou a supressão da glicose do meio de cultura aumenta o acúmulo intracelular da droga [6]. Estas informações, associadas ao fato de que as células resistentes mantêm uma menor concentração de droga devido a uma maior excreção, fazem supor a existência de um mecanismo de efluxo de toxinas dependente de energia. A presença de 170 Pgp na membrana das células resistentes, sua associação com a bomba de efluxo e com a resistência a múltiplas drogas têm sido confirmadas na segunda linha de pesquisa, direcionada para a biologia molecular. Nesta área, verificou-se a presença freqüente de cromossomos *double minute*, indicativos de ampliações gênicas nas células resistentes [7, 8]. Inúmeras técnicas genéticas foram empregadas [9] para isolar seqüências que fossem amplificadas nas células resistentes e estivessem ausentes nas células sensíveis. Identificaram-se segmentos que codificam a 170 P-glicoproteína em células tumorais de hamster, camundongos e humanos. Tais segmentos são chamados genes *mdr* ou *pgp* [10, 11]. Em linhagens de tumor humano isolaram-se duas isoformas da P-glicoproteína, *mdr1* e *mdr3*, porém apenas a primeira mostrou associação com a MDR, sendo a função da isoforma *mdr3* ainda desconhecida. Tentativas de transfecção destes genes para células sensíveis resultaram em linhagens com fenótipo MDR clássico [12, 13], apresentando redução do acúmulo intracelular de droga, resistência cruzada com outras drogas envolvidas no fenômeno e detecção da 170 Pgp na membrana celular.

A 170 Pgp é composta de duas metades similares com 12 regiões hidrofóbicas ao longo da molécula e que correspondem aos pontos onde ela cruza a membrana plasmática. Nas extremidades da molécula existem segmentos que se ligam à molécula de ATP, de onde provêm a energia para o efluxo das drogas, e por fim uma área de glicolisação que se localiza em região externa à célula [14]. O mecanismo exato de transporte da 170 P-glicoproteína e a função que desempenha nas células na ausência de citotóxicos ainda são desconhecidos. Níveis elevados do gene *mdr1* têm sido detectados em tecidos humanos normais como os da glândula supra-renal, rim, pulmão, fígado, jejuno, cólon e reto, onde se localiza no pólo excretor das células. Este achado tem sido a base da hipótese formulada pelos pesquisadores de que a

170 Pgp esteja associada ao processo de desintoxicação do organismo, explicando-se sua atuação apenas sobre drogas que se originam de produtos naturais. É interessante notar que a P-glicoproteína se faz presente em tecidos cujos tumores apresentam resistência intrínseca à quimioterapia [15, 16].

Começam a surgir na literatura os primeiros dados correlacionando a presença do gene *mdr1* com a resistência de tumores e o aumento de expressão de *mdr1* nas recidivas [17]. Este se encontra em níveis elevados em tumores não tratados, como carcinoma de cólon, hipernefoma, hepatoma, câncer adrenocortical, feocromocitoma, tumores de pâncreas, leucemias mielóides crônicas em crise blástica, neuroblastoma; e em recidivas pós-quimioterapia de linfomas não-Hodgkin, neuroblastomas, neoplasia de mama e leucemias.

O primeiro estudo retrospectivo da possível importância clínica da MDR foi em rhabdomyosarcomas, mostrando uma grande diferença estatística na evolução e sobrevida entre os grupos de pacientes positivos e negativos para a 170 Pgp [18]. Como os dados analisados até a presente data não incluem grandes séries, estudos prospectivos com avaliação da expressão MDR antes do tratamento e na recidiva estão em andamento, quando então se terá uma avaliação mais precisa da importância prognóstica do gene *mdr1*. Anticorpos monoclonais dirigidos contra a 170 P-glicoproteína foram produzidos, existindo mais três utilizados em pesquisa: MRK16 [19], JSB1 [20] e o C219 [21]. Com estes anticorpos consegue-se detectar *in vitro* a presença de células com expressão da 170 Pgp. Contudo, o uso desta abordagem *in vivo* ou como tratamento ainda não está disponível, mas esta é uma possibilidade já em fase de estudos pré-clínicos.

As investigações correm ainda em outra direção: É possível reverter o fenômeno de resistência a múltiplas drogas tornando sensível ao tratamento um tumor resistente? Inúmeras substâncias têm mostrado moduladores da MDR. O grupo mais bem estudado é o dos bloqueadores de canais de cálcio, como verapamil e nifedipina. A lista (Tabela 2) dos reversores de MDR incluem também drogas não relacionadas com mecanismo de regulação de cálcio [22, 23, 24, 25]. Apesar do mecanismo de ação não estar definido, alguns trabalhos [26, 27] mostram uma ação direta destas substâncias sobre a 170 P-glicoproteína. Presume-se que haja uma competição pelo mesmo sítio de ligação entre a droga citotóxica e os moduladores na molécula da 170 Pgp. Por outro lado, estudos clínicos usando doxorrubicina e verapamil no tratamento de tumores de ovário refratários não mostraram melhora da resposta [23, 28]. O maior problema apresenta-se nas altas doses de verapamil necessárias para potencializar os efeitos da doxorrubicina, resul-

tando em inaceitável toxicidade cardíaca devido ao bloqueador de cálcio. Apesar destes primeiros resultados desencorajadores, as pesquisas continuam buscando o agente reversor ideal para o uso clínico [29, 30, 31].

Tabela 2. Agentes reversores.

Bloqueadores de cálcio:	
Verapamil	Nifedipina*
Desmetoxiverapamil	Nicardipina*
Diltiazem*	Niludipina*
Nitrendipina	Bepidil*
Caroverina	Nimodipina*
Inibidores de calmodulina:	
Trifluoperazina	
Clomipramina	
Premylamina	
NO233	
Análogos não-citotóxicos:	
N-acetildaunorrubicina*	
Vindolina	
Bloqueador de microfilamentos:	
Citochalasina	
Detergentes:	
Deoxicholate	
Tween 80	
Antibióticos:	
Anfotericina B	
Filipina	
Imunossupressores:	
Ciclosporina A*	
Antiarrítmicos:	
Procainamida	
Quinidina	
Cloroquina	
Lidocaína	
Propranolol	
Difenil hidantóina	
Substâncias lisossomotrópicas:	
Triton WR 1339	
Monodansicadaverina	
Metilamina	

*testados *in vivo*

Outros mecanismos além da 170 P-glicoproteína parecem estar envolvidos na MDR. Em algumas linhagens celulares [32, 33] encontram-se o padrão de resistência cruzada e a redução do acúmulo intracelular da droga, mas sem ser possível a detecção de

um aumento na expressão da 170 Pgp. Outros padrões de resistência múltipla têm sido descritos [34, 35], chamados de resistência atípica a múltiplas drogas. Nesta situação há resistência cruzada a etoposídeo e antraciclinas, mas estas células se mantêm sensíveis aos alcalóides da vinca. Não há expressão da 170 Pgp e não há alteração no acúmulo intracelular da droga. Todos estes dados sugerem outro mecanismo intracelular que não o de transporte como responsável pela resistência na MDR atípica. Há, também, dados sobre alterações no sistema enzimático de desintoxicação celular com decréscimo de Aril hidrocarbono hidroxilase (AHH) e aumento da atividade de glutathione S Transferase (GSH), ambos os fenômenos resultando em maior inativação das drogas [36]. Atualmente ainda não se estabeleceu a importância destas alterações enzimáticas detectadas sobre a expressão do fenótipo MDR. Provavelmente o fenômeno de resistência múltipla e o resultado da interação de diferentes mecanismos de defesa celular, incluindo tanto a amplificação de genes como a alteração do sistema enzimático e mesmo novos processos ainda não identificados.

Apesar das dúvidas existentes, o modelo da 170 Pgp é o mais consistente que o laboratório forneceu à clínica até o momento sobre o fenótipo MDR. Portanto, torna-se urgente o melhor conhecimento deste fenômeno, de forma que seja possível a melhor forma de detecção, prevenção e reversão do problema, permitindo contorná-lo com segurança na prática clínica diária. Como resultado imediato do sucesso em ultrapassar a MDR teríamos uma grande percentagem dos pacientes já resistentes ao tratamento, com chances de resposta a uma nova abordagem terapêutica.

Summary

One of the major problems in clinical oncology is the drug resistance phenomenon. Frequently, tumor cells are able to overpass the damage caused by cytostatic agents. The discovery of 170 P-glycoprotein (170 Pgp) as responsible for multidrug resistance (MDR) was an important research step on this field. Here, we present a retrospective on the definition of the 170 Pgp model.

Key words: chemotherapy; multidrug resistance

Referências bibliográficas

1. BIEDLER JL, RIEHM H. Cellular resistance to actinomycin D in chinese hamster cell in vitro: Cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies. *Cancer Res* 1970; 30: 1174-1184.
2. BECH-HANSON NT, TILL JE, LING V. Pleiotropic phenotype of colchicine-resistant HO cells: cross resistance and collateral sensitivity. *J Cell Physiol* 1976; 88: 23-32.
3. JULIANO JL, LING VA. A surface glycoprotein modulating drug permeability in chinese hamster ovary cell mutants. *Biochem Biophys Acta* 1976; 455: 152-162.
4. KARTNER N, RIORDAN JR, LING V. Cell surface Pglycoprotein is associated with multidrug resistance in mammalian cell lines. *Science* 1983; 221: 1285-1288.
5. LING V, THOMPSON LH. Reduced permeability in CHO cells as a mechanism of resistance to colicine. *J Cell Physiol* 1973; 83: 103-116.
6. BECK WT. The cell biology of multiple drug resistance. *Pharmacol* 1987; 36: 2879-2887.
7. BASKIN F, ROSEMBERG RN, DEV V. Correlation of double-minute chromosomes with unstable multidrug cross-resistance in uptake mutants of neuroblastoma cells. *Proc Nat Acad Sci (USA)* 1981; 78: 3654-3658.
8. GRUND SH, PATIL SR, SHAH HO, PAUW PG, STADLER JK. Correlations of unstable multidrug cross resistance in chinese hamster ovary cells with a homogenously staining region on chromosome. 1. *Mol Cell Biol* 1983; 3: 1634-1647.
9. RONINSON IB, ABLESON HT, HOUSMAN DE, HOWELL N, VARSHAVSKU A. Amplification of specific DNA sequences correlates with multidrug resistance in chinese hamster cells. *Nature* 1984; 309: 636-628.
10. SCOTTO KW, BIEDLER JL, MELERA PW. Amplification and expression of genes associated with multidrug resistance in mammalian cells. *Science* 1986; 232: 751.
11. CROOP JM, GUILD BC, GROS P, HOUSMAN DE. Genetics of multidrug resistance: relationship of a cloned gene to the complete multidrug resistance phenotype. *Cancer Research* 1987; 47: 5982-5988.
12. UEDA K, CARDARELLI C, GOTTESMANN MM, PASTAN I. Expression of a full length cDNA for human "MDRI" gene confers resistance to colchicine, doxorubicin and vinblastine. *Proc Nat Acad Sci (USA)* 1987; 84: 3004.
13. GUILD BC, MULLIGAN RC, GROS P, HOUSMAN DE. Retroviral transfer of a murine cDNA for multidrug resistance confers pleiotropic drug resistance to cells without prior drug selection. *Proc Nat Acad Sci (USA)* 1989; 85: 1595-1599.
14. MARX J. Drug resistance of cancer cells probe. *Science* 1986; 234: 818.
15. FOJO AT, UEDA K, SLAMON DJ, POPLACK DG, GOTTESMAN MM, PASTAN I. Expression of multidrug resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1987; 84: 265-269.
16. SUGAWARA I, KATACKA I, MORISHITA Y, HAMADA H, TSURUO T, ITOYAMA S, MORI S. Tissue distribution of P-glycoprotein encoded by a multidrug resistant gene as revealed by a monoclonal antibody MRK16. *Cancer Res* 1988; 48: 1926-1929.
17. GOLDSTEIN LJ, GALSKEI H, FOJO A et al. Expression of a multidrug resistance gene in human cancers. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 116-124.
18. CHAN HSL, THORNER PS, HADDAD G, LING V. Immunohistochemical detection of P-glycoprotein: prognostic correlation in soft tissue sarcoma of childhood. *J Clin Oncol* 1990; 8: 689-704.
19. HAMADA H, TSURUO T. Functional role for the 170-180 kDa

- glycoprotein specific to drug resistant tumor cells as revealed by monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1986; 83: 7785-7789.
20. SCHEPER RJ, BUETE JWM, BROXTERMAN HJ, PINEDO H. Monoclonal antibody JSB1 detects a highly conserved epitope on the Pgp associated to multidrug resistance. *Int J Cancer* 1988; 42: 389-394.
 21. KATNER N, PORELLE DE, BRADLEY G, LING V. Detection of P-glycoprotein in resistant cell lines by monoclonal antibodies. *Nature* 1985; 316: 820-824.
 22. TSURUO T, LIDA H, NOJIRI M, TSUKAGOSHI S, SAKURAI Y. Circumvention of vincristine and adriamycin resistance in vitro and in vivo by calcium influx blockers. *Cancer Res* 1983; 43: 2905-2910.
 23. ROGAN AM, HAMILTON TC, YOUNG RC. Reversal of adriamycin resistance by verapamil in human ovarian cancer. *Science* 1984; 224: 994-996.
 24. TSURUO T, LIDA H, KITATANI Y, YOKOTA K, TSUKAGOSHI S, SAKURAI Y. Effects of quinidine and related compounds on cytotoxicity and cellular accumulation of vincristine and adriamycin in drug resistant tumor cells. *Cancer Res* 1984; 44: 4303-4307.
 25. SLATER LM, SWEET P, STUPECKY M, WETZEL MW, GUPTA S. Cyclosporin A corrects daunorubicin resistance in Ehrlich ascited carcinoma. *Br J Cancer* 1986; 54: 235-238.
 26. CORWELL MM, PASTAN I, GOTTESMAN MM. Certain calcium channel blockers bind specifically to multidrug resistant human KB carcinoma membrane vesicles and inhibit drug binding to P-glycoprotein. *J Biol Chem* 1987; 262: 2166-2170.
 27. SAFA AR, GLOVER CJ, SEWELL JL, MEYERS MB, BIEDLER JL, FELSTED RL. Identification of the multidrug resistance related membrane glycoprotein as an acceptor for calcium channel blockers. *J Biol Chem* 1987; 262: 7884-7888.
 28. OZOLS RF, CUNNION RE, KLECKER RW. Verapamil and adriamycin in the treatment of drug resistant ovarian cancer patients. *J Clin Oncol* 1987; 5: 641-647.
 29. SHINIDA H, INABA M, TSURUO T. In vivo circumvention of vincristine resistance in mice with P388 leukemia using a novel compound: AHC-52. *Cancer Res* 1989; 49: 1722-1726.
 30. TWENTYMAN PR. Modification of cytotoxic drug resistance by immunosuppressive cyclosporins. *Br J Cancer* 1988; 57: 264-268.
 31. KRAMER RA, ZAKHER J, KIM G. Role of the glutathione redox cycle in acquired and de novo multidrug resistance. *Science* 1988; 241: 694-697.
 32. MCGRATH T, CEUTER MS. Adriamycin resistance in HL-60 cells in the absence of detectable P-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Com* 1987; 145: 1171-1176.
 33. MIRISKI SEL, GERLACH JH, COLE SPC. Multidrug resistance in a human small cell lung cancer line selected in adriamycin. *Cancer Res* 1987; 47: 2594-2598.
 34. DANKS MK, YALOWISH JC, BECK WT. Atypical multiple drug resistance in a human leukemic cell line selected for resistance to teniposide (VM 26). *Cancer Res* 1987; 47: 1297-1301.
 35. BECK WT, LIRTAİN MC, DANKS MK. Pharmacological molecular and cytogenetic analysis of atypical multidrug resistant human leukemia cells. *Cancer Res* 1987; 47: 5455-5460.
 36. COWAN KH, BATIST G, TULPULE A, SENHA BK, MEYERS CE. Similar biochemical changes associated with multidrug resistance in human breast cancer cells and carcinogen-induced resistance to xenobiotics in rats. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1986; 83: 9328-9332.

NOTÍCIAS

A Escola Européia de Hematologia lançará seu calendário preliminar de eventos para o próximo ano. De acordo com sua Diretoria, a instituição tem interesse em reunir pesquisadores e médicos especialistas para discutir assuntos referentes aos campos da hematologia, imunologia, oncologia, genética e biologia molecular, entre outros.

A seguir destacamos alguns dos cursos que já estão programados:

- Metodologia para os protocolos clínicos de investigação (24 a 26/2/92)
- Fatores de crescimento hematopoiéticos (6 a 10/4/92)
- Plaquetas e trombozes (11 a 15/5/92)
- Transfusões (1 a 5/6/92)
- Leucemias, fatores de risco e tratamento (9 a 13/11/92)

Os cursos acima serão realizados em Château de Maffeiers a 20 km de Paris, França.

- Hematologia pediátrica (7 a 10/9/92, Moscou, Rússia)
- Tipagem HLA e biologia molecular (20 a 24/4/92, Paris, França)
- Hemostase e trombose (20 a 25/6/92, Paris, França)
- Carência nutricional e câncer (14 a 16/6/92, Créteil, França)
- Imunotecnologia do endotélio vascular (14 a 17/9/92, Marseille, França)
- Investigação clínica e laboratorial no lúpus (16 a 18/3/92, Wales, Inglaterra)
- Hematologia e informática (maio 1992, Barcelona, Espanha)
- Leucemia e linfoma (5 a 8/10/91, Paris, França)

Para maiores informações:

European School of Haematology
Centre Hayen
Hôpital Saint-Louis
Avenue Claude Vellefaux 1
75475 - Paris - Cedex 10, France
Tel.: (1) 42 06 6540 - Fax (1) 42 41 1470

• • •

A União Internacional de Combate ao Câncer (UICC) está organizando em Gênova, Itália, de 3 a 5/

12/92, um encontro internacional sobre oncologia cirúrgica (Special International Columbus Meeting on Surgical Oncology).

Maiores informações com:

Italiana Congresses
Via P.E. Bensa 2/6a - 16124 Genoa
Italy
Phone: 0039 10 247 0857
Fax: 0039 10 299 382

• • •

O Instituto Nacional para Pesquisa em Câncer, de Genova, Itália, associado à Europe Against Cancer, International Union Against Cancer e à International Agency for Research on Cancer, está organizando para 7 a 10/6/92 um congresso internacional sobre câncer do esôfago. Deverão ser abordados temas referentes à pesquisa básica, epidemiologia, prevenção, lesões pré-malignas, estadiamento, tratamento cirúrgico conservador e radical, bem como tratamento adjuvante e paliativo.

Maiores informações:

E92 Itália
Via R. Benini 7, 00191 Rome
Italy
Phone: 0039 6 328 8150
Fax: 0039 6 329 4684

• • •

Deverá se realizar em Buenos Aires, Argentina, entre os dias 30/3 a 3/4/92, a 8ª Conferência Mundial sobre Tabaco ou Saúde. Esta conferência deverá abordar, entre outros, os seguintes tópicos: fumo e saúde, controle do fumo e ações preventivas contra o tabagismo na adolescência.

Maiores informações:

8th World Conference on Tobacco or Health
Secretariat
c/o American Cancer Society
1599 Clifton Road, N.E.
Atlanta, GA 30329 - 4251 - USA

INCaRNPT

Instituto Nacional de Câncer

Registro Nacional de Patologia Tumoral - RNPT

Continuando nossa serie de informes, estamos divulgando uma das primeiras tabelas que fazem parte das 64 tabelas com dados do RNPT do quinquenio 1981 - 1985, que estará sendo publicado em breve.

Nessa tabela, o diagnóstico citológico, foi incorporado com o objetivo de aumentar a cobertura dos diagnósticos de câncer, vista a sua aceitação e o reconhecimento de que eles já apresentam precisão e acuidade suficiente para o estabelecimento do diagnóstico definitivo de câncer, principalmente a partir de material colhido de medula óssea, pulmão, mama, próstata e estômago.

Os diagnósticos citopatológicos de câncer de colo uterino, embora coletados, não estão incluídos nesta tabela,

porque não representam, na maioria dos casos, o diagnóstico definitivo e porque existe a rotina estabelecida de se confirmarem os resultados citopatológicos de câncer de colo uterino com o exame histopatológico.

Essa tabela tem uma apresentação simplificada que facilita uma análise imediata do universo dos números e seus percentuais.

Ao se observar os dados da região nordeste, devemos sempre considerar uma subnotificação desses diagnósticos, pois determinados laboratórios localizados na cidade de Recife, com um número considerável de dados disponíveis, não os enviaram ao RNPT, causando assim, prejuízo ao cadastro do registro.

Número e percentagem de diagnósticos de câncer primário excluindo carcinomas basocelular e espinocelular da pele, segundo grandes regiões, unidades da federação e sexo BRASIL 1981-85

GRANDES REGIÕES UNIDADES DA FEDERAÇÃO	HOMEM		MULHER		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
NORTE						
RO - Rondônia	179	45,9	211	54,1	390	100,0
AC - Acre	103	35,6	186	64,4	289	100,0
AM - Amazonas	1403	36,4	2453	63,6	3856	100,0
RR - Roraima	43	29,9	101	70,1	144	100,0
PA - Pará	2870	39,6	4383	60,4	7253	100,0
AP - Amapá	85	22,7	290	77,3	375	100,0
TOTAL REGIÃO NORTE	4683	38,1	7624	61,9	12307	100,0
NORDESTE						
MA - Maranhão	577	25,8	1701	74,7	2278	100,0
PI - Piauí	910	28,5	2285	71,5	3195	100,0
CE - Ceará	4763	42,3	6491	57,7	11254	100,0
RN - Rio Grande do Norte	1608	36,8	2767	63,2	4375	100,0
PB - Paraíba	1549	34,9	2885	65,1	4434	100,0
PE - Pernambuco	2263	35,2	4168	64,8	6431	100,0
AL - Alagoas	1341	32,0	2854	68,0	4195	100,0
FN - Fernando de Noronha	-	-	-	-	-	-
SE - Sergipe	1507	34,8	2887	65,7	4394	100,0
BA - Bahia	5622	37,7	9279	62,3	14901	100,0
TOTAL REGIÃO NORDESTE	20140	36,3	35317	63,7	55457	100,0
CENTRO-OESTE						
MS - Mato Grosso do Sul	1320	39,1	2053	60,9	3373	100,0
MT - Mato Grosso	552	43,7	710	56,3	1262	100,0
GO - Goiás	2779	39,1	4320	60,9	7099	100,0
DF - Distrito Federal	2105	37,7	3480	62,3	5585	100,0
TOTAL REGIÃO CENTRO-OESTE	6756	39,0	10563	61,0	17319	100,0
SUDESTE						
MG - Minas Gerais	18377	46,2	21405	53,8	39782	100,0
ES - Espírito Santo	2586	48,5	2746	51,5	5332	100,0
RJ - Rio de Janeiro	80135	47,7	32987	52,3	63122	100,0
SP - São Paulo	62096	46,7	70892	53,3	132988	100,0
TOTAL REGIÃO SUDESTE	113194	46,9	128030	53,1	241224	100,0
SUL						
PR - Paraná	12980	52,5	11745	47,5	24725	100,0
SC - Santa Catarina	3955	51,8	3683	48,2	7638	100,0
RS - Rio Grande do Sul	20724	48,8	21708	51,2	42432	100,0
TOTAL REGIÃO SUL	37659	50,3	37136	49,7	74795	100,0
BRASIL	182432	45,5	218670	54,5	401102	100,0

INFORMAÇÕES AOS COLABORADORES

A *Revista Brasileira de Cancerologia - RBC* tem por finalidade publicar artigos que contribuam para conhecimento sobre a cancerologia e ciências afins. Publica também artigos nas seções Cartas, Informes, Publicações e Notícias, entre outras.

Serão fornecidas 15 separatas de cada trabalho publicado na *RBC* ao seu autor responsável.

Os textos devem ser inéditos e destinar-se exclusivamente à *RBC*, não sendo permitida sua apresentação simultânea em outro periódico. A publicação dos trabalhos dependerá da observância das normas da revista e da decisão do seu corpo editorial. Os manuscritos não aceitos serão devolvidos ao autor. Os trabalhos aceitos e publicados passarão a ser propriedade da revista, sendo vedada tanto sua reprodução, mesmo que parcial, em outros periódicos, assim como sua tradução para outros idiomas, sem prévia autorização do Conselho Editorial da *RBC*.

Os trabalhos aceitos para publicação poderão sofrer pequenas modificações redacionais, para sua perfeita adequação ao estilo editorial-gráfico da revista, sem que, entretanto, nada de seu conteúdo técnico-científico seja alterado. No caso de o trabalho incluir tabelas e ilustrações previamente publicadas por outros autores e em outros veículos, é da responsabilidade do autor fornecer comprovante de autorização de reprodução, assinado pelos detentores do *copyright* dos mesmos.

Os trabalhos devem ser enviados, em duas vias (um original e uma cópia), para:

Programa de Oncologia - Pro-Onco
Revista Brasileira de Cancerologia
Av. Venezuela, 134, bl. A, 9º andar
CEP 20081 - Rio de Janeiro - RJ
Tel.: (021) 253-1956

Os textos devem ser escritos em língua portuguesa, em inglês ou espanhol. Devem limitar-se a 15 páginas (laudadas) datilografadas, em uma só face, em máquina com tipologia *standard*, com espaçamento duplo, em folha de papel tamanho ofício II, com margens laterais uniformes, de forma que cada lauda tenha 30 linhas de 72 caracteres. Na datilografia, não é obrigatória uma margem direita rigorosa, podendo-se, mesmo, optar por não dividir as palavras em sílabas; porém, é fundamental não completar linhas com sinais gráficos alheios ao texto redigido, tais como: barras, aspas etc. As laudas devem ser numeradas consecutivamente, começando pela página de rosto, na sua extremidade superior direita.

Cada componente do trabalho deve iniciar nova lauda, sendo a sua ordem de apresentação a seguinte:

Página de rosto

Nesta lauda devem constar o título do trabalho, o(s) nome(s) do(s) autor(es) e sua(s) qualificação(ões) profissional(is) e docente(s), além do local de realização do trabalho e seu endereço. Caso o trabalho tenha sido apresentado em reunião científica, isto deve ser indicado no rodapé da lauda; o mesmo se aplica a subvenções, com indicação do patrocinador e do número do processo.

Resumos

Devem ser apresentados dois resumos: um em português e o outro em inglês, com, no máximo, 300 palavras. Cada um deles deve vir acompanhado de um máximo de 10 unitermos.

Texto propriamente dito

O texto dos artigos originais deverá ser dividido nos principais subtítulos: INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS e DIS-

CUSSÃO. As subdivisões dessas seções deverão estar bem claras, preferencialmente pelo uso de algarismos arábicos, de tal forma que a hierarquia entre os diversos subtítulos fique bem clara (p. ex., 1., 1.1, 1.2.1 etc.). Outras modalidades de artigos deverão manter sua seqüência pertinente, de modo a conservar a hierarquia do texto.

Tabelas

Cada tabela deverá ser datilografada em lauda separada, numerada consecutivamente com algarismos arábicos e com um título que defina e identifique, sucintamente, seu conteúdo (p. ex., Tabela 5. Alterações circadianas nas frações de colágeno em ossos e em cartilagens). Suas informações devem ser suficientemente claras e devem suplementar - e não duplicar - o texto.

Ilustrações

São consideradas ilustrações todas as fotografias, radiografias, desenhos, esquemas, croquis, resultados de eletroencefalogramas etc., reprodução de documentos (fichas médicas, laudos de laboratório etc.), entre outros.

A fim de que sejam bem reproduzidas, as ilustrações devem ser originais (e não fotocópias). No caso de desenhos, esquemas etc., estes devem ser feitos sobre papel shöeller, vegetal ou outro de uso técnico, traçados a nanquim preto; palavras, símbolos, algarismos etc., que componham as ilustrações, devem ser aplicados sobre papel vegetal, que recubra, de modo preciso, as mesmas ilustrações. No caso de fotografias, estas devem ser em preto-e-branco e sobre papel fosco, com pelo menos 12 x 9cm. Radiografias, ultra-sonografias, fotografias e similares poderão receber uma máscara que indique a melhor área a ser reproduzida.

Cada ilustração deverá ser colada sobre uma lauda cujo rodapé contenha sua legenda, datilografada nos mesmos moldes dos títulos das tabelas (p. ex., Figura 2. Úmero de quatro dias.) (PAS; 400 X).

Referências

Estas devem ser enumeradas, consecutivamente, na ordem em que são citadas (entre parênteses) no texto. Os títulos dos periódicos deverão ser abreviados de acordo com o *Index Medicus*. Comunicações pessoais, trabalhos em andamento e inéditos não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas, mas citado em notas de rodapé. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores.

A *RBC* segue as orientações para elaboração de referências bibliográficas do Comitê de Journal Editors e publicadas sob o nome Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals [Annals of Internal Medicine 1982; 96 (part 1): 766-771] e sugere aos autores sua consulta em caso de dúvida. Seguem alguns exemplos:

Artigos de revista - listar todos os autores quando seis ou menos; se forem sete ou mais, listar somente os três primeiros e acrescentar *et al.*

Kroeff M. Câncer e gravidez. Sarcoma da parede abdominal com várias recidivas ligadas a gestações. *Rev Bras Cancerol* 1947; 1: 31-41.

Hersh EM, Mavligit GM, Gutterman JU. Immunodeficiency in cancer and the importance of immune evaluation in the cancer patient. *Med Clin North Am* 1976; 60: 623-639.

Livros

Eisen HN. Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974: 406.

Capítulo de livro

Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic physiologic mechanisms of disease. Philadelphia: WB Saunders, 1974: 457-472.

NOSSOS AGENTES ESPECIAIS.



 FARMITALIA CARLO ERBA

GRUPO ERBAMONT