

ISS

Istituto Superiore di Sanita' Esposizione Professionale a Chemioterapici Antblastici Rischi per la Riproduzione e Strategie per la Prevenzione



Documento



Tutti i Diritti Riservati

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Esposizione professionale
a chemioterapici antitumorali:
rischi per la riproduzione
e strategie per la prevenzione**

A cura di
Grazia Petrelli (a) e Silvana Palmi (b)

(a) Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità, Roma
*(b) Dipartimento di Medicina del Lavoro, Istituto Superiore per la Prevenzione
e la Sicurezza del Lavoro (ISPESL), Roma*

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN
02/16

Istituto Superiore di Sanità

Esposizione professionale a chemioterapici antitumorali: rischi per la riproduzione e strategie per la prevenzione.

A cura di Grazia Petrelli e Silvana Palmi

2002, 108 p. Rapporti ISTISAN 02/16

Negli ultimi anni numerosi interventi sono stati condotti per tentare di ridurre i danni alla salute dei lavoratori esposti a farmaci chemioterapici antitumorali. Tuttavia, l'uso sempre più ampio di questi farmaci e la persistenza del rischio per il personale sanitario continua a suscitare l'attenzione delle istituzioni. In questa tematica l'Istituto Superiore di Sanità e l'Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro (ISPESL) hanno costituito un gruppo di studio al fine di elaborare un documento che pongesse l'attenzione sui rischi tra i lavoratori professionalmente esposti a questi farmaci. Il presente rapporto descrive, sulla base della recente letteratura nazionale e internazionale, lo stato dell'arte per quanto riguarda i rischi riproduttivi. In particolare riporta alcuni aspetti sulla normativa nazionale e internazionale, sugli aspetti tossicologici, farmacologici ed epidemiologici, sull'esposizione professionale, sulla vigilanza e sulle linee guida nazionali e internazionali.

Parole chiave: Farmaci antitumorali, Esposizione professionale, Infermieri, Tossicità riproduttiva

Istituto Superiore di Sanità

Professional exposure to antineoplastic drugs: reproductive risks and strategies for the prevention.

Edited by Grazia Petrelli and Silvana Palmi

2002, 108 p. Rapporti ISTISAN 02/16 (in Italian)

During the last years many preventive actions have been conducted to reduce the damages of occupational workers exposed to antineoplastic drugs. Nevertheless, the attention of the Institutions is still focused on this problem because of the increasing use of antineoplastic drugs and the persistent risk for nurses. A working group has been constituted by the Istituto Superiore di Sanità (Italian National Institute of Health) and the Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro (ISPESL, National Institute of Occupational Safety and Prevention) to elaborate a document on the reproductive risk among the workers professionally exposed to these drugs. This report describes, on the basis of the recent international and national scientific literature, the state of art on the reproductive risk. Different specific aspects have been considered as the national and international regulation, the pharmacological, toxicological and epidemiological information, the professional exposure, health care, national and international guidelines.

Key words: Antineoplastic drugs, Occupational exposure, Nurses, Reproductive toxicity

Si ringrazia Anna Maria Giannelli per il contributo nella composizione editoriale del rapporto.

Il presente studio è stato finanziato dal progetto "Donna Salute Lavoro: nuovi orientamenti della ricerca" (Art. 12 Decreto Legislativo 502/92 ISPESL).

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it/pubblicazioni.

INDICE

Introduzione	1
Classificazioni e valutazioni degli agenti antiblastici <i>Ida Marcello</i>	3
Chemioterapici antiblastici: aspetti farmacologici <i>Luciano Saso, Gaetano Mauro</i>	20
Cenni di fisiopatologia della riproduzione umana: farmaci antineoplastici e sistema riproduttivo <i>Alessandra Pera</i>	36
Rischi per la salute degli esposti ad antiblastici in ambiente ospedaliero. L'evidenza epidemiologica: sintesi della letteratura <i>Irene Figà-Talamanca</i>	45
Effetti di farmaci antitumorali sulla riproduzione femminile e lo sviluppo prenatale: dati sperimentali <i>Alberto Mantovani, Anna Velia Stazi</i>	50
Effetti di farmaci antitumorali sulla spermatogenesi: dati sperimentali <i>Maria Elsa Traina, Elisabetta Urbani</i>	63
Valutazione soggettiva del rischio tra infermieri esposti ad antiblastici <i>Caterina Vollono, Anna Maria Giannelli, Grazia Petrelli</i>	75
La sorveglianza sanitaria degli operatori esposti a chemioterapici antiblastici <i>Bruno Papaleo, Mariangela De Rosa, Stefano Signorini</i>	85
La prevenzione individuale e collettiva <i>Silvana Palmi, Francesco Draicchio, Marta Petyx</i>	94
Commento a linee guida internazionali, nazionali e normativa italiana <i>Tiziana Paola Baccolo, Francesco Draicchio</i>	100
Risorse informative online su esposizione di lavoratori esposti ad antiblastici e danni riproduttivi <i>Letizia Sampaolo</i>	105

INTRODUZIONE

Sul nesso casuale tra esposizione lavorativa a farmaci antitumorali e danni alla salute dei lavoratori esposti si è ampiamente dibattuto e sono stati promossi numerosi interventi per ridurre il rischio lavorativo. Pur tuttavia gli incidenti che si rilevano tra gli operatori sanitari, l'uso sempre più ampio di queste sostanze anche verso patologie non neoplastiche, le differenti modalità di somministrazione ai pazienti e la formulazione di nuovi farmaci contribuiscono ad aumentare il livello di attenzione della comunità scientifica, delle istituzioni e dei lavoratori stessi.

Fin dall'inizio degli anni '80, a livello internazionale, molta attenzione è stata rivolta all'esposizione lavorativa ad antitumorali. In numerosi Paesi occidentali, grazie all'emanazione delle linee guida sul corretto uso professionale e l'attuazione di interventi di informazione e formazione, è stata osservata una forte riduzione del rischio lavorativo.

In Italia, da più di 10 anni, si è preso coscienza di questo problema; la Commissione Oncologica Nazionale, nel febbraio del 1995, ha incaricato l'Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro (ISPESL) di coordinare un gruppo di lavoro pluridisciplinare, costituito da esperti qualificati, con l'obiettivo di predisporre delle linee guida sull'argomento. Nel 1999 l'impegno del gruppo di lavoro si è concretizzato con l'emanazione da parte del ministero della Salute del "Documento di linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario" che hanno permesso di fornire indicazioni operative standardizzate ai lavoratori e ai responsabili delle strutture sanitarie.

Il presente rapporto trae origine dal Programma per la ricerca finalizzata 1999 (art. 12 DL.vo n. 502/1992) "Donna Salute Lavoro. Nuovi orientamenti della ricerca" e dall'unità operativa dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) il cui tema di studio è incentrato sui "Danni riproduttivi da esposizione professionale diretta e/o indiretta ad agenti chimici in ambiente ospedaliero".

In questo ambito, l'ISS e l'ISPESL hanno avvertito l'opportunità di costituire un gruppo di esperti per elaborare un documento che sinteticamente analizzasse alcuni punti considerati rilevanti per ottimizzare le pratiche di sicurezza che dovrebbero essere adottate al fine di ridurre il rischio associato all'esposizione professionale.

I contributi del presente rapporto elaborano, quindi, la letteratura esistente e/o ricerche originali condotte in merito all'esposizione lavorativa ad antitumorali alla luce delle nuove acquisizioni scientifiche in tema di tossicità riproduttiva. La struttura del rapporto è articolata in 11 contributi che focalizzano l'attenzione su differenti aspetti della problematica.

I primi due capitoli introducono la classificazione e le valutazioni di cancerogenicità degli agenti antitumorali, e discutono gli aspetti farmaceutici e farmacologici in relazione ad esposizioni professionali degli agenti antitumorali utilizzati nei protocolli terapeutici.

I quattro successivi capitoli introducono: la fisiopatologia della riproduzione in relazione ad esposizioni lavorative ad antitumorali; una sintesi degli studi epidemiologici più significativi condotti per evidenziare possibili effetti mutageni, cancerogeni e riproduttivi dei lavoratori esposti; i dati sperimentali relativi agli effetti sulla riproduzione femminile e sullo sviluppo prenatale; i dati sperimentali sulla spermatogenesi. Abbiamo ritenuto opportuno dedicare due capitoli del rapporto alla descrizione di dati sperimentali per meglio chiarire i meccanismi di azione di questi farmaci ed evidenziare eventuali patologie difficilmente rilevabili con osservazioni epidemiologiche.

I successivi capitoli sono particolarmente indirizzati alla valutazione dei rischi professionali e includono pertanto la valutazione dell'esposizione, la sorveglianza sanitaria, le protezioni individuali e collettive alla luce della normativa e delle linee guida in base alla Legge 626/1994. Nelle esposizioni di tipo professionale, il successo degli interventi di prevenzione è infatti strettamente legato alla conoscenza del rischio e dei suoi effetti sulla salute, alla conoscenza dei dispositivi di protezione più idonei e alla corretta applicazione della procedura.

Nell'elaborare i differenti capitoli un rilevante supporto è stato fornito dal Servizio di Documentazione dell'ISS che ha elaborato strategie di interrogazione di specifiche banche dati. Vengono pertanto sinteticamente riferite nell'ultimo capitolo le risorse online interrogate e le strategie di ricerca adottate.

Il presente rapporto, alla luce delle tematiche dibattute, ha lo scopo di presentare lo stato dell'arte in merito ai possibili danni riproduttivi in dotti dall'esposizione lavorativa a farmaci antiblastici nell'auspicio che possa costituire un supporto per chi svolge attività di ricerca su questa tematica.

CLASSIFICAZIONI E VALUTAZIONI DEGLI AGENTI ANTIBLASTICI

Ida Marcello

Laboratorio di Tossicologia Applicata, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Classificazione dell'Unione Europea

La normativa che regola il settore delle sostanze e dei preparati pericolosi per la salute dell'uomo e/o dell'ambiente prevede che questi siano classificati ed etichettati in accordo con la Direttiva di base 67/548/CEE e successive modifiche e direttive correlate.

Questa direttiva rappresenta per i Paesi dell'Unione Europea (UE) il riferimento principe sia per quanto concerne la protezione dei lavoratori, sia dei consumatori sia della popolazione. Nell'ambito di tale direttiva, l'UE ha adottato, nel 1979 (1), un sistema di classificazione delle sostanze che considerava categorie di pericolo relative ad effetti "cancerogeni, mutageni e teratogeni". In precedenza tali effetti erano inglobati nella categoria dei "tossici" con frasi di rischio aspecifiche. Successivamente, la Direttiva 83/467/CEE (2) ha individuato e definito 2 categorie di sostanze teratogene. La Direttiva 93/21/CEE (3) ha ulteriormente ampliato il concetto di teratogeno introducendo quello di effetti tossici sulla riproduzione, comprendente sia le alterazioni della fertilità nel maschio e nella femmina che l'induzione di danni non ereditabili alla progenie. Con questa direttiva sono stati individuati pertanto due principali campi di interesse: effetti sulla fertilità sia maschile sia femminile ed effetti tossici sullo sviluppo.

Tuttavia, è importante sottolineare che, nell'ambito della Direttiva 67/548/CEE, l'UE limita il campo di applicazione del meccanismo di classificazione, escludendo alcune specifiche categorie quali specialità medicinali a uso umano e veterinario, prodotti cosmetici, prodotti alimentari, alimenti per animali, sostanze radioattive e quanto già disciplinato da altre normative analoghe specifiche. Questo approccio porta alla esclusione dal campo di applicazione della Direttiva 67/548 anche dei chemioterapici antiblastici che, sebbene riconosciuti come cancerogeni per l'uomo da enti quali l'International Agency for Research on Cancer (IARC), o inclusi nell'*Annual Report on Carcinogens*, pubblicato con cadenza biennale dall'US Department of Health and Human Services (4), non vengono presi in considerazione e classificati dalla UE rispetto ad alcun *end point*, in quanto, l'appartenenza al settore dei farmaci li esclude dal campo di applicazione della Direttiva 67/548/CEE.

Valutazioni di agenzie ed enti internazionali e nazionali

Come già detto, le procedure correnti di classificazione di pericolo previste dalla UE, non considerano i farmaci come oggetto di valutazione. Il Regolamento 93/793 riguardante la valutazione del rischio delle sostanze esistenti prescinde dalla destinazione d'uso e pertanto non esclude i principi attivi ad azione farmacologica dal proprio campo di applicazione (5); tuttavia, essendo l'Inventario europeo EINECS (European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances) il riferimento di base di detto Regolamento, si rileva che molti principi attivi per farmaci non si ritrovano in tale elenco essendo comunque esclusi dall'obbligo di

notifica previsto dalla Direttiva 92/32/CE (6). Pertanto, in questo ambito non sono disponibili valutazioni di rischio utilizzabili per i lavoratori potenzialmente esposti a questi agenti durante la loro produzione, preparazione e somministrazione.

È comunque possibile ottenere informazioni di rilievo dalle regolamentazioni d'uso dei farmaci, che evidentemente si riferiscono ai rischi connessi con l'assunzione del farmaco in quanto tale e non ai rischi per i lavoratori esposti a queste sostanze. Infatti, anche se l'esposizione (via di esposizione, modalità, dosi, durata e quant'altro) è diversa per l'utente del farmaco e per colui che lo produce, prepara e somministra, la base di dati sul rischio teratogeno del farmaco in quanto tale costituisce comunque un'importante informazione che il valutatore del rischio deve considerare. A tale proposito è utile ricordare che l'US Food and Drug Administration (FDA) considera in modo sistematico i rischi per il feto conseguenti all'uso di farmaci. A partire dal 1977, la FDA utilizza cinque categorie per indicare il potenziale teratogeno di un farmaco (7). I rischi sono naturalmente riferiti al feto in caso di assunzione del farmaco in gravidanza e la categoria A è quella a più basso rischio, la categoria X a più alto. Le categorie, descritte in tabella 1, considerano i dati ottenuti da esperimenti su animali da laboratorio e/o sperimentazioni cliniche. Queste categorie sono universalmente accettate e costituiscono un riferimento di cui tener conto ai fini di una valutazione del rapporto rischio-beneficio nell'impiego di determinati farmaci.

Tabella 1. Definizioni per le categorie di rischio teratogeno adottate dalla US FDA dal 1977

Categoria	Descrizione
A	Studi controllati su pazienti di sesso femminile non hanno dimostrato rischi fetali nel primo trimestre e la possibilità di danni fetali appare remota.
B	Studi sull'animale non indicano rischi per il feto ma non sono disponibili studi controllati nell'uomo; oppure, studi nell'animale mostrano qualche evento avverso sul feto ma studi ben controllati in pazienti gravide non lo hanno confermato.
C	Alcuni studi hanno evidenziato che il farmaco esercita effetti teratogeni o embriocidi sull'animale, ma mancano studi controllati in pazienti di sesso femminile; oppure, non sono disponibili studi né sull'animale né in pazienti di sesso femminile.
D	Non sono stati eseguiti studi adeguati negli animali o nell'uomo, o sono stati dimostrati effetti collaterali sul feto negli animali, ma non sono disponibili dati nell'uomo. Vi sono evidenze positive che esista un rischio fetale nell'uomo, ma i benefici, in alcune situazioni (ad esempio, situazioni di imminente pericolo di vita o patologie gravi nelle quali farmaci più sicuri non possono essere utilizzati o sono inefficaci), possono rendere l'uso del farmaco accettabile rispetto ai suoi rischi.
X	Studi sull'animale o nell'uomo hanno dimostrato anomalie fetali, oppure vi è evidenza di rischio fetale derivante dall'esperienza dell'uso nell'uomo, oppure entrambe le situazioni, e i rischi fetali chiaramente superano ogni possibile beneficio.

Molti dei principi attivi antitumorali identificati nell'Allegato a questo contributo si collocano, relativamente al rischio teratogeno, nella categoria D (es. Bleomicina, Cisplatino, Ciclofosfamide, Ciclosporina, Doxorubicina).

È inoltre noto che le precauzioni di uso dei farmaci includono l'esclusione o limitazioni in caso di gravidanza. Questa semplice informazione costituisce comunque un criterio per identificare potenziali rischi anche per i lavoratori.

Relativamente al rischio riproduttivo, nessun ente o agenzia, ad esclusione della UE e, a livello nazionale, della Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale (CCTN), ha

sviluppato propri criteri per valutare la tossicità riproduttiva. Come premesso, i farmaci antiblastici non vengono presi in considerazione dalla UE rispetto ad alcun *end point* mentre la Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale, su richiesta dell'ISPEL e sulla base di suggerimenti avanzati dalla Consulta Interassociativa Italiana per la prevenzione, ha iniziato nel 1995 un'attività di valutazione di chemioterapici antiblastici in accordo con i propri criteri. Questo lavoro, finalizzato all'adeguamento della normativa per consentire l'applicazione del titolo VII del DL.vo 626/1994 anche ai chemioterapici antiblastici, ha portato alla inclusione nella "Lista cancerogeni: chemioterapici antiblastici" di circa 20 principi attivi (8). La valutazione fu limitata ai principi antitumorali prodotti in Italia, considerando come unico *end point* il potenziale cancerogeno.

Negli USA il Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR) valuta, a partire dal 1998, il potenziale di agenti di causare effetti avversi a carico della riproduzione e dello sviluppo (9). Queste valutazioni, effettuate da scienziati indipendenti, sono condotte sulla base di dati di letteratura e sono rivolte a sostanze cui può essere esposto l'uomo. Nessun dei principi attivi considerati nell'Allegato, è presenti nelle liste di lavoro del CERHR.

In Tabella 2 viene riportato l'elenco dei chemioterapici antiblastici classificati da CCTN, IARC e NTP con le corrispondenti allocazioni (10). Ogni voce viene indicata tramite:

- nome: è il nome con cui il principio attivo è identificato nell'Allegato del presente contributo;
- n. CAS: numero di registro attribuito dal Chemical Abstract Service (CAS).

Per ciascuna voce vengono riportate le classificazioni e valutazioni di cancerogenicità formulate da:

- Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale (CCTN) (8);
- International Agency on Research on Cancer (IARC); viene indicata anche l'ultima monografia della IARC in cui è stata presa in considerazione la sostanza (11,12);
- National Toxicology Program (NTP) nell'ambito del nono *Annual Report* (4).

Tabella 2. Principi attivi chemioterapici valutati da IARC, CCTN e NTP (10)

Principio attivo (*) [n.] (**)	N. CAS	Categoria		
		CCTN (***)	IARC	NTP
5-azacitidina (*) [36]	320-67-2	-	2A (probabile cancerogeno) (50, 1990)	probabile cancerogeno
Amsacrina [65]	51264-14-3	-	2B (possibile cancerogeno) (76, 2000)	non valutato
Bleomicina (*) [57]	11056-06-7	3b	2B (possibile cancerogeno) (S7, 1987)	non valutate
Bleomicina solfato	9041-93-4		2B (possibile cancerogeno) (S7, 1987)	
Busulfan [8]	55-98-1	1	1 (cancerogeno per l'uomo) (S7, 1987)	cancerogeno riconosciuto
Carboplatino [48]	41575-94-4	3b	non valutato	non valutato
Carmustina [11]	154-93-8	-	2A (probabile cancerogeno) (S7, 1987)	probabile cancerogeno

segue

continua

Principio attivo (*) [n.] (**)	N. CAS	Categoria		
		CCTN (***)	IARC	NTP
Ciclofosfamide anidra (*) [2]	50-18-0	1	1 (cancerogeno per l'uomo) (S7, 1987)	cancerogeno riconosciuto
Ciclofosfamide monoidrata	6055-19-2			
Cisplatino [45]	15663-27-1	1	2A (probabile cancerogeno) (S7, 2000)	probabile cancerogeno
Clorambucil (*) [4]	305-03-3	1	1 (cancerogeno per l'uomo) (S7, 1987)	cancerogeno riconosciuto
Dacarbazina [15]	4342-03-4	3b	2B (possibile cancerogeno) (S7, 1987)	probabile cancerogeno
Dactinomicina [59]	50-76-0		3 (non classificabile) (S7, 1987)	
Daunorubicina [49]	20830-81-3	3b	2B (possibile cancerogeno) (S7, 1987)	non valutato
Doxorubicina (*) [50]	23214-92-8	2	2A (probabile cancerogeno) (S7, 1987)	non valutato
Doxorubicina cloridrato	25316-40-9			probabile cancerogeno
Epirubicina [51]	56420-45-2	4a	non valutato	non valutato
Etoposide (*) [63]	33419-42-0	2	2A (probabile cancerogeno) (76, 2000)	non valutato
5-Fluorouracile [30]	51-21-8	3b	3 (non classificabile) (S7, 1987)	non valutato
Idrossiurea (*) [69]	127-07-1	-	3 (non classificabile) (76, 2000)	non valutato
Ifosfamide (*) [3]	3778-73-2	2	3 (non classificabile) (S7, 1987)	non valutato
Lomustina [12]	13010-47-4	2	2A (probabile cancerogeno) (S7, 1987)	probabile cancerogeno
Lonidamina [72]	50264-69-2	4a	non valutato	non valutato
Mecloretamina (*) [1]	51-75-2	-	2A (probabile cancerogeno) (S7, 1987)	
Mecloretamina cloridrato (*)	55-86-7			probabile cancerogeno
Mecloretamina cloridrato ossido	302-70-5		2A (probabile cancerogeno) (S7, 1987)	
Melfalan (*) [5]	148-82-3	-	1 (cancerogeno per l'uomo) (S7, 1987)	cancerogeno riconosciuto
Mercaptopurina [24]	50-44-2	3a	3 (non classificabile) (S7, 1987)	non valutato
Methotrexate [19]	59-05-2	4a	3 (non classificabile) (S7, 1987)	non valutato

segue

continua

Principio attivo (*) [n.] (**)	N. CAS	Categoria		
		CCTN (***)	IARC	NTP
Mitomicina-C (*) [58]	50-07-7	3b	2B (possibile cancerogeno) (S7, 1987)	non valutato
Mitomane [71]	53-19-0	-	2B (possibile cancerogeno) (53, 1991)	
Mitoxantrone [54]	65271-80-9		2B (possibile cancerogeno) (76, 2000)	non valutato
Mitoxantrone bicloridrato (*)	70476-82-3	-		
Prednimustina [6]	29069-24-7	-	3 (non classificabile) (50, 1990)	non valutato
Procarbazina idrocloreuro [18]	366-70-1	2	2A (probabile cancerogeno) (S7, 1987)	probabile cancerogeno
Streptozocina [13]	18883-66-4	-	2B (possibile cancerogeno) (S7, 1987)	probabile cancerogeno
Teniposide (*) [64]	29767-20-2	-	2A (probabile cancerogeno) (76, 2000)	non valutato
Trietilentiofosforamide (Tio-TEPA) (*) [7]	52-24-4	-	1 (cancerogeno per l'uomo) (50, 1990)	cancerogeno riconosciuto
Vinblastina solfato (*) [39]	143-67-9	-	3 (non classificabile) (S7, 1987)	non valutato
Vincristina solfato [38]	2068-78-2	4a	3 (non classificabile) (S7, 1987)	non valutato

(*) Indica la disponibilità, nell'inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal relativo N° CAS.

(**) Numero di riferimento per l'identificazione dei principi attivi riportato nella Tabella A dell'Allegato.

(***) *Categoria 1 - Sostanze note per effetti cancerogeni sull'uomo;*
Categoria 2 - Sostanze da considerare cancerogene per l'uomo;
Categoria 3 - Sostanze da considerare con attenzione per possibili effetti cancerogeni. Questa categoria comprende due sottocategorie: Sottocategoria 3a - Sostanze oggetto di ricerche adeguate e che non possono essere classificate nella categoria 2 per mancanza di prove sufficienti sui loro effetti cancerogeni. Si ritiene che ulteriori esperimenti non aggiungano elementi utili a modificare la classificazione; Sottocategoria 3b - sostanze oggetto di studi non adeguati. Tuttavia, i dati disponibili hanno segnalato effetti cancerogeni. Tale classificazione è provvisoria in quanto è necessario effettuare ulteriori adeguati studi.
Categoria 4 - Sostanze non valutabili per cancerogenicità. - Questa categoria comprende due sottocategorie:
Sottocategoria 4a - Sostanze non valutabili per assenza di studi o in quanto sono state oggetto di studi inadeguati o di studi limitati che comunque non hanno segnalato effetti cancerogeni. La classificazione è provvisoria in attesa della disponibilità di ulteriori dati.
Sottocategoria 4b - Sostanze che in esperimenti adeguati hanno indotto effetti cancerogeni di dubbio significato per l'uomo. Si ritiene che ulteriori esperimenti non aggiungano elementi utili a modificare la classificazione.

Bibliografia

1. Unione Europea. Direttiva del Consiglio del 18 settembre 1979 recante sesta modifica della direttiva 67/548/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose (79/831/CEE). *Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea* n. L 259/10, 15 ottobre 1979.

2. Italia. Decreto del Presidente della Repubblica. 20 febbraio 1988 n. 141. Modificazioni all'art. 8 del decorso del Presidente della Repubblica 24 Novembre 1981, n. 927, e recepimento delle direttive CEE n.83/467 e n.86/431 che adeguano per la quinta e la settima volta al progresso tecnico la direttiva CEE n.67/548 sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze e dei preparati pericolosi. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n.104, 5 maggio 1988.
3. Unione Europea. Direttiva 93/21/CEE della Commissione del 27 Aprile 1993 recante diciottesimo adeguamento al progresso tecnico della direttiva 67/548/CEE del Consiglio concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose. *Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea* n. L 110, 4 maggio 1993.
4. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program: Nine Annual Report on Carcinogens 2001. NIEHS, Research Triangle Park NC, 2001 Disponibile all'indirizzo: <http://ehp.niehs.nih.gov/roc/>; ultima consultazione 29/04/2002.
5. Unione Europea. Regolamento (CEE) n. 793/93 del Consiglio del 23 Marzo 1993 relativo alla valutazione e al controllo dei rischi presentati dalle sostanze esistenti. *Gazzetta Ufficiale della Comunità Europea* n. L 84/1, 5 aprile 1993.
6. Unione Europea. Direttiva 92/32/CEE del Consiglio, del 30 Aprile 1992, recante settima modifica della direttiva 67/548/CEE concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose. GU n.L 154 del 5.6.1992 recepita con Decreto legislativo 3 febbraio 1997, n.52 relativo all'Attuazione della direttiva 92/32/CEE concernente classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. L 53/L, 11 marzo 1997.
7. FDA. Pregnancy categories for prescription drugs. *FDA Drug Bull* 1982;12:2425.
8. CCTN. Rapporto dell'attività svolta dalla Commissione Consultiva Tossicologica nel 1997. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 1997. (Rapporti ISTISAN 97/4).
9. National Toxicology Program, Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR). 2000. Disponibile all'indirizzo <http://cerhr.niehs.nih.gov/news/index.html>; ultima consultazione 29/04/2002.
10. INSC. Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche (INSC). File on line. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2002.
11. IARC. International Agency for Research on Cancer Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Volume 1 to 77, anni 1972-2002. IARC, Lyon. Disponibili all'indirizzo: <http://www.iarc.fr/>
12. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes I to 42 Supplement 7 IARC, Lyon; 1987. Disponibile all'indirizzo: <http://www.iarc.fr/>

Allegato

I farmaci chemioterapici sono usualmente classificati in gruppi che fanno riferimento al meccanismo d'azione (agenti alchilanti, antimetaboliti, antimicrotubuli), all'azione fisiologica (ormoni) o in rapporto alla loro derivazione (antibiotici). In generale, queste classificazioni hanno un loro livello di arbitrarietà in quanto vari farmaci potrebbero trovare collocazione in più classi; ad esempio, la streptozotocina è un antibiotico appartenente alla classe delle nitrosouree la cui azione biologica si esplica attraverso il meccanismo dell'alchilazione.

In questo Allegato i farmaci chemioterapici considerati sono stati suddivisi in classi che fanno riferimento a criteri misti (meccanismo d'azione, derivazione, altro). All'interno di ciascuna classe vengono descritti i diversi agenti. Nello stilare questo elenco ci si è riferiti a trattati e repertori sui quali sussiste un consenso da parte di quanti operano nel campo dell'oncologia sia a livello nazionale sia internazionale e che, nati da esigenze pratiche, trovano ampia diffusione tra gli operatori del settore (Tabella 1) (1-4).

In considerazione delle finalità del rapporto al cui interno questo Allegato si colloca dall'elenco sono stati esclusi agenti ormonali, agenti biologici e agenti differenzianti.

Per ciascun principio attivo viene indicata la denominazione internazionale e, qualora questa sia diversa dal nome convenzionale italiano, quest'ultimo viene riportato tra parentesi. La scelta di riportare una denominazione comune piuttosto che il nome chimico è dettata da esigenze pratiche considerata la complessità e la lunghezza di nomi attribuiti secondo la nomenclatura IUPAC o CAS. Per ciascun principio viene tuttavia indicato il Numero di registro attribuito dal *Chemical Abstract Service* dell'*American Chemical Society* che consente una identificazione univoca della molecola e rappresenta una chiave per poter accedere ai sistemi informativi a carattere biomedico.

Per ciascun principio attivo viene sempre identificata la molecola base. Nel caso di variazioni nel grado di idratazione o della presenza di eventuali derivati, sono state identificate tutte le forme. Questo non ha alcun rilievo farmacologico, in quanto si tratta di forme prescelte esclusivamente ai fini della miglior conservazione temporale del prodotto.

La chemioterapia è supportata dalla somministrazione di vari farmaci non direttamente antiblastici ma che possono potenziare l'effetto dei chemioterapici (ad esempio allopurina e acido folico) o ridurre gli effetti tossici collaterali come gli antiemetici. Alcuni di questi farmaci sono stati inseriti nell'elenco.

Per ciascun principio attivo viene infine indicata la disponibilità commerciale del farmaco corrispondente con l'indicazione del nome del farmaco e della ditta produttrice (5,6).

Alcuni dei farmaci presenti in tabella non sono in commercio in Italia e sono allo stadio sperimentale in attesa che vengano accertate la loro efficacia e sicurezza. Questi farmaci sono stati inclusi nell'elenco in quanto il trattamento con essi può essere realizzato tramite sperimentazione clinica condotta avendo come sponsor enti *no profit* (aziende ospedaliere, associazioni scientifiche, IRCCS) o aziende farmaceutiche. In Italia, il 64,8% delle sperimentazioni cliniche di antineoplastici viene condotto da enti *no profit* che realizzano spesso i trattamenti nell'ambito di protocolli congiunti con il *National Cancer Institute* di *Bethesda*. Inoltre, l'autorizzazione di questi farmaci segue iter rapidi e pertanto alcuni dei principi attivi in via di sperimentazione potrebbero esser inclusi a breve nell'elenco dei farmaci autorizzati (7).

Per molti dei principi attivi elencati in tabella 1 è disponibile una scheda nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, la banca dati sulle sostanze chimiche del Laboratorio di Tossicologia Applicata dell'Istituto Superiore di Sanità (8).

Tabella A. Farmaci chemioterapici utilizzati nelle neoplasie

	Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
AGENTI ALCHILANTI				
Mostarde azotate				
1	Mecloretamina (*) (**)	51-75-2	Non in commercio in Italia	
	Mecloretamina cloridrato (*)	55-86-7		Caryolisin (Delagrangue, Francia) Mustargen (Merck Sharp & Dohme, Svizzera)
	Mecloretamina cloridrato ossido	302-70-5		
2	Ciclofosfamida anidra (*)	50-18-0	Disponibile in commercio	
	Ciclofosfamida monoidrata	6055-19-2		Endoxan Asta (Asta Medica); Cytosan (Bristol Myers Squibb)
3	Ifosfamida (*)	3778-73-2	Disponibile in commercio	Holoxan (Asta Medica)
4	Clorambucil (*)	305-03-3	Disponibile in commercio	Leukeran (Glaxo Wellcome)
5	Melfalan (*)	148-82-3	Disponibile in commercio	Alkeran (Glaxo Wellcome)
6	Prednimustina	29069-24-7	Non in commercio in Italia	Stereocyt (Pharmacia Pharmaceutical)
Aziridine				
7	Trietilentiolfosforamide (Tio-TEPA) (*)	52-24-4	Non in commercio in Italia Fornito dalla Roger Bellon, Francia	Thiotepa (Roger Bellon)
Sulfonossialcani				
8	Busulfan (Busulfano)	55-98-1	Disponibile in commercio	Myleran (Glaxo-Wellcome)
Epossidi				
9	Mitolattolo (Dibromodulcitololo)	10318-26-0	Fornito per uso sperimentale dal National Cancer Institute	Mitolac (Aventis Pharma)
10	Mitobronitolo (dibromomannitolo)	488-41-5	Non in commercio in Italia	Myelobromol
Nitrosouree				
11	Carmustina	154-93-8	Non disponibile in commercio in Italia. Fornita dalla Bristol Myers Oncology Division (Princeton, New Jersey)	BiCNU (Bristol-Myers)
12	Lomustina	13010-47-4	Disponibile in commercio	CEENU (Bristol Myers Squibb)
13	Streptozocina	18883-66-4	Non in commercio in Italia	Zanosar (Upjohn-USA)
	Streptozocina tetraacetato			
14	Fotemustina	92118-27-9	Disponibile in commercio	Muphoran (Italfarmaco)

segue

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

continua

	Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
AGENTI ALCHILANTI NON CLASSICI				
Triazeni				
15	Dacarbazina	4342-03-4	Disponibile in commercio	Deticene (Bellon)
16	Temozolomide	85622-93-1	Disponibile in commercio	Temodal (Schering-Plough Europe)
Metilmelamine				
17	Altretamina (Esametilmelamina)	645-05-6	Revocata in seguito a rinuncia della ditta titolare dell'autorizzazione (12.2.2001)	Hexastat (Rone Poulenc)
Procarbazina (*)				
18	Procarbazina cloridrato (*)	671-16-9 366-70-1	Disponibile in commercio	Natulan (Sigma Tau Industrie Farmaceutiche)
ANTIMETABOLITI				
Antagonisti dell'acido folico				
19	Metotressato (*)	59-05-2	Disponibile in commercio	Metotressato (Teva Pharma B.V.; Faulding Farmaceutici; Zambon Italia)
	Metotressato monoidrato	6745-93-3		
	Metotressato sale sodico	7413-34-5		Methotrexate (Wyeth Lederle); Metotressato (Fidia Farmaceutici)
20	Trimetrexate	52128-35-5	Disponibile in commercio	Neutrexin (Us Bioscience Inc)
	Trimetrexate monoacetato monoidrato	117381-09-6		
	Trimetrexate D-glicuronato	82952-64-5		
21	Edatrexate	80576-83-6	Non in commercio in Italia. Fornito dalla Ciba Geigy Corporation	Ciba Geigy Corporation
22	Raltitrexed	112887-68-0	Disponibile in commercio	Tomudex (AstraZeneca)
	Raltitrexed monoidrato			
23	Acido folico	59-30-3	Disponibile in commercio	Folina (Schwarz Pharma); Cernevit (Clintec Parenteral); Calcifolin (Ibrn); Citofolin (Bracco); Folidar (Italfarmaco); Sanifolin (New Farma)

segue

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

continua

	Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
Antagonisti delle purine				
24	Mercaptopurina anidra	50-44-2	Disponibile in commercio	Purinethol (The Wellcome Foundation)
	6-mercaptopurina monoidrata	6112-76-1		
25	6-tioguanina anidra (*)	154-42-7	Disponibile in commercio	Thioguanine (The Wellcome Foundation)
	6-tioguanina emiidrata	5580-03-0		
26	Fludarabina	21679-14-1	Disponibile in commercio	
	Fludarabina 5'-monofosfato (*)	75607-67-9		Fludara (Schering)
27	Pentostatina (*)	53910-25-1	Disponibile in commercio	Nipent (Parke-Davis)
28	Cladribina	4291-63-8	Disponibile in commercio	Leustatin (Janssen-Cilag)
29	Allopurinolo (farmaco di supporto in chemioterapia)	315-30-0	Disponibile in commercio	Allopurinolo (Gnr; Officina Farmaceutica Fiorentina; Industria Farmaceutica Nova Argentina; Farmaceutici Ecobi Sas; A.D. Pharma 2000; Dompè Spa;) Allurit (Aventis Pharma) Uricemil (L. Molteni E C.) Uricodue (Benedetti) Zyloric (Glaxosmithkline)
Antagonisti delle pirimidine				
30	Fluorouracile (5-Fluoro-2,4(1N,3H)pirimidindione) (*)	51-21-8	Disponibile in commercio	Efudix (ICN Pharmaceuticals); Fluorouracile (Carlo Erba O.T.C; Sanwin; Faulding Farmaceutici; Teva)
	Fluorouracile sale di sodio	14787-18-9		
31	Floxuridina	50-91-9	Non in commercio in Italia. Fornita dalla Roche Laboratories, Nutley-New York	FUDR (Roche)
32	Tegafur (Ftorafur)	17902-23-7	Disponibile in commercio	Citofur (Lusofarmaco) UFT (Bristol Myers Squibb)
33	Doxifluridina	3094-09-5	Revoca dell'autorizzazione all'immissione in commercio per rinuncia della ditta titolare dell'autorizzazione (19.12.2001) in Italia	Furtulon (Roche)
34	Capecitabina	154361-50-9	Disponibile in commercio	Xeloda (Roche)

segue

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

continua

	Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
35	Citarabina	147-94-4	Disponibile in commercio	Aracytin (Pharmacia & Upjohn); Erpalfa (Industria Terapeutica Splendore); Citarabina (Faulding Farmaceutici; Fidia Farmaceutici);
	Citarabina liposomiale		Non disponibile in Italia. Fornita dalla Chiron Therapeutics in Enervylle, CA (USA)	DepoCyt (Chiron)
36	5-azacitidina (*)	320-67-2	Non in commercio in Italia	Milosar (Upjohn, USA)
37	Gemcitabina	95058-81-4	Disponibile in commercio	Gemzar (Ely Lilly)
	Gemcitabina cloridrato	122111-03-9		

AGENTI ANTIMICROTUBULI

Alcaloidi della Vinca				
38	Vincristina (*)	57-22-7		
	Vincristina solfato (*)	2068-78-2	Disponibile in commercio	Vincristina (Ely Lilly); Vincristina Phm (Pharmacia & Upjohn); Vincristina DBL (Faulding) Vincristina Teva (Teva)
39	Vinblastina	865-21-4		
	Vinblastina solfato (*)	143-67-9	Disponibile in commercio	Velbe (Ely Lilly)
40	Vindesina	53643-48-4		
	Vindesina solfato (*)	59917-39-4	Disponibile in commercio	Eldisine (Ely Lilly)
41	Vinorelbina	71486-22-1		
	Vinorelbina bitartrato (*)	125317-39-7	Disponibile in commercio	Navelbine (Pierre Fabbre Italia)
Tassani				
42	Paclitaxel (*)	33069-62-4	Disponibile in commercio	Taxol (Bristol Myers Squibb)
43	Docetaxel anidro (*)	114977-28-5	Disponibile in commercio	Taxotere (Aventis Pharma)
	Docetaxel triidrato (*)	148408-66-6		
44	Estramustina	2998-57-4		
	Estramustina fosfato (*)	4891-15-0		
	Estramustina fosfato sodico monoidrato	52205-73-9	Disponibile in commercio	Estracyt (Pharmacia & Upjohn Ab)

segue

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

continua

Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
ANALOGHI DEL PLATINO			
45 Cisplatino (*)	15663-27-1	Disponibile in commercio	Cisplatino (Pharmacia Italia; Faulding Farmaceutica; Gnr; Baker Italia); Cisplatino Segix (Segix Italia; Teva; Pharma); Citoplatino (Bellon); Platamine (Pharmacia Italia); Pronto Platamine (Pharmachemie B.V.); Platinex (Bristol-Myers Squibb)
46 Carboplatino (*)	41575-94-4	Disponibile in commercio	Carboplatino (Pharmacia Italia; TEVA; Baker Italia; Zambon Italia) Carboplatino DBL (Faulding Farmaceutici) Paraplatin (Bristol-Meyers Squibb)
47 Oxaliplatino	61825-94-3	Disponibile in commercio	Eloxatin (Sanofi-Winthrop)
48 Amifostina	20537-88-6	Disponibile in commercio	Ethyol (US Bioscience)
Amifostina monoidrata	63717-27-1		
Amifostina triidrata	119201-68-5		
ANTIBIOTICI ANTITUMORALI			
Antracicline			
49 Daunorubicina (*)	20830-81-3	Disponibile in commercio	Daunoblastina (Pharmacia Italia) Daunoxome (Gilead Sciences)
Daunorubicina cloridrato	23541-50-6		
50 Doxorubicina (*)	23214-92-8	Disponibile in commercio	
Doxorubicina cloridrato	25316-40-9		Caelyx (Schering-Plough Europe); Adriblastina (Pharmacia Italia); Doxorubicina (Zambon); Myocet (Elan Pharma International)
Doxorubicina liposomiale	-	Disponibile in commercio	Caelyx (Schering-Plough)
51 Epirubicina	56420-45-2	Disponibile in commercio	
Epirubicina cloridrato (*)	56390-09-1		Farmorubicina (Pharmacia Italia)
52 Idarubicina	58957-92-9		
Idarubicina cloridrato (*)	57852-57-0	Disponibile in commercio	Zavedos (Pharmacia Italia S.P.A.)

segue

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

continua

	Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
53	Razoxane (Dexrazoxano) (S)-(+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazinil)propano	24584-09-6 21416-87-5	Disponibile in commercio	Cardioxane (Chiron B.V.) Eucardion (Dompè Biotec S.P.A.)
Antracenedioni				
54	Mitoxantrone Mitoxantrone bicloridrato (*)	65271-80-9 70476-82-3	Disponibile in commercio	Novantrone (Cyanamid); Mitoxantrone (Zambon); Onkotrone (Baxter)
Antrapirazoli				
55	Losoxantrone Losoxantrone cloridrato	88303-60-0 88303-61-1	Fornito per uso sperimentale dalla DuPont Pharma	
56	Piroxantrone Piroxantrone cloridrato	91441-23-5 105118-12-5	Non in commercio in Italia. Fornito per uso sperimentale dalla Warner Lambert Company	Warner Lambert Company - Parke-Davis
Antibiotici non antraciclinici				
57	Bleomicina (*) Bleomicina solfato	11056-06-7 9041-93-4	Disponibile in commercio	Bleomicina Nippon Kayaku (Euro Nippon Kayaku GmbH) Mitomycin C (Kyowa)
58	Mitomomicina-C (*)	50-07-7	Disponibile in commercio	
59	Dactinomomicina Dactinomomicina triidrata	50-76-0	Disponibile in commercio	Cosmegen (Merck Sharp & Dohme)
60	Plicamicina (Mitramicina)	18378-89-7	Non in commercio in Italia	Mithracine (Pfizer, Francia); Mithracin (Miles, USA)
INIBITORI DELLA TOPOISOMERASI I				
Camptotecine				
61	Irinotecan Irinotecan Cloridrato Triidrato	97682-44-5 136572-09-3	Disponibile in commercio	Campto (Aventis Pharma)
62	Topotecan Topotecan cloridrato	123948-87-8 119413-54-6	Disponibile in commercio	Hycamtin (SmithKline Beecham)

segue

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

continua

Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
INIBITORI DELLA TOPOISOMERASI II			
Epipodofillotossine			
63 Etoposide (*)	33419-42-0	Disponibile in commercio	Etoposide (Zambon; TEVA; Fidia Farmaceutici; Faulding Farmaceutici)
Etoposide fosfato	117091-64-2		Etopophos (Bristol Myers Squibb) Lastet (Pharmacia & Upjohn), Vepesid (Bristol-M.Squibb)
64 Teniposide (*)	29767-20-2	Disponibile in commercio	Vumon (Bristol-Myers Squibb)
Aminoacridine			
65 Amsacrina	51264-14-3	Non in commercio in Italia. Disponibile in commercio in alcuni Paesi e fornito per uso sperimentale dal National Cancer Institute	Amsidine (Substantia, Francia)
Derivati ellipticinici			
66 Elliptinio	58337-34-1		Celiptium
Elliptinio acetato	58337-35-2	Fornito per uso sperimentale da Laboratoires Institut Pasteur	
MISCELLANEI			
67 L-Asparaginasi	9015-68-3	Non in commercio in Italia	Elspar (Merck, Sharpe&Dolme Laboratories, USA) (L-Asparaginasi derivata da Erwinia Carotovora); Crasnitin (Bayer) (L-Asparaginasi derivata da E. Coli)
68 Gallo nitrato	13494-90-1	Non in commercio in Italia	Ganite (Fujisawa, USA)
69 Idrossiurea (*)	127-07-1	Disponibile in commercio	Oncocarbide (Teofarma)
70 Mitoguazone (metil-mitoguazone)	459-86-9	Fornito per uso sperimentale dal National Cancer Institute	Metil-GAG
Mitoguazone cloridrato	7059-23-6		
71 Mitotane	53-19-0	Non in vendita in Italia. Disponibile in commercio negli USA	Lysodren (Bristol, USA)

segue

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

continua

	Nome comune del principio attivo (altro nome)(*)	N. CAS	Disponibilità commerciale	Nomi commerciali (Ditta produttrice)
72	Lonidamina	50264-69-2	Disponibile in commercio	Doridamina (Az. Chim. Riun. Angelini Francesco Acraf Spa)
73	Pamidronato disodio anidro	57248-88-1	Disponibile in commercio	Aredia (Novartis Farma)
	Pamidronato disodio Pentaidrato	109552-15-0		
74	Suramina	145-63-1	Non in commercio in Italia. Fornito per uso sperimentale dalla Bayer USA	

(*) Indica la disponibilità, nell'Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche, della scheda relativa al principio attivo identificato dal N. CAS relativo.

(**) La base è una arma chimica.

Indice dei nomi

Al fine di facilitare la ricerca, si riporta l'indice dei nomi sia dei principi attivi che dei farmaci con il relativo numero di riferimento indicato nella Tabella A.

Principio attivo/Farmaco	N.	Principio attivo/Farmaco	N.
(s)-(+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazinil)propano	53	Capecitabina	34
5-azacitidina	36	Carboplatino DBL	46
6-mercaptopurina monoidrata	24	Carboplatino	46
6-tioguanina anidra	25	Cardioxane	53
6-tioguanina emiidrata	25	Carmustina	11
Acido folico	23	Caryolisin	1
Adriblastina	50	CEENU	12
Alkeran	5	Celiptium	66
Allopurinolo	29	Cernevit	23
Allurit	29	Ciclofosfamide anidra	2
Altretamina	17	Ciclofosfamide monoidrata	2
Amifostina monohidrata	48	Cisplatino Segix	45
Amifostina triidrata	48	Cisplatino	45
Amifostina	48	Citarabina	35
Amsacrina	65	Citarabina liposomiale	35
Amsidine	65	Citofolin	23
Aracytin	35	Citofur	32
Aredia	73	Citoplatino	45
BiCNU	11	Cladribina	28
Bleomicina Nippon Kayaku	57	Clorambucil	4
Bleomicina solfato	57	Cosmegen	59
Bleomicina	57	Crasnitin	67
Busulfan	8	Cytosan	2
Caelyx	50	Dacarbazina	15
Calcifolin	23	Dactinomina triidrata	59
Campo	61	Dactinomina	59

segue

continua

Principio attivo/Farmaco	N.	Principio attivo/Farmaco	N.
Daunoblastina	49	Estracyt	44
Daunorubicina cloridrato	49	Estramustina fosfato sodico monoidrato	44
Daunorubicina	49	Estramustina	44
Daunoxome	49	Ethyol	48
DepoCyt	35	Etopophos	63
Dexrazoxano	53	Etoposide fosfato	63
Deticene	15	Etoposide	63
Dibromodulcitolio	9	Eucardion	53
Dibromomannitolo	10	Farmorubicina	51
Docetaxel anidro	43	Floxuridina	31
Docetaxel triidrato	43	Fludara	26
Doridamina	72	Fludarabina	26
Doxifluridina	33	Fludarabina 5'-monofosfato	26
Doxorubicina cloridrato	50	Fluorouracile	30
Doxorubicina liposomiale	50	Fluorouracile (5-fluoro-2,4(1N,3H)	30
Doxorubicina	50	Fluorouracile sale di sodio	30
Edatrexate	21	Folidar	23
Efudix	30	Folina	23
Elisine	40	Fotemustina	14
Elliptinio acetato	66	Ftorafur	32
Elliptinio	66	FUDR	31
Eloxatin	47	Furtulon	33
Elspar	67	Gallio nitrato	68
Endoxan	2	Ganite	68
Epirubicina cloridrato	51	Gemcitabina	37
Epirubicina	51	Gemcitabina cloridrato	37
Erpalfa	35	Gemzar	37
Esametilmelamina	17	Hexastat	17
Holoxan	3	Mithracine	60
Hycamtin	62	Mitobronitolo	10
Idarubicina cloridrato	52	Mitoguazone cloridrato	70
Idarubicina	52	Mitoguazone	70
Idrossiurea	69	Mitolac	9
Ifosfamide	3	Mitolattolo	9
Irinotecan cloridrato Triidrato	61	Mitomane	71
Irinotecan	61	Mitomicina-C	58
L-Asparaginasi	67	Mitomycin C	58
Lastex	63	Mitoxantrone bicloridrato	58
Leukeran	4	Mitoxantrone	54
Leustatin	28	Mitramicina	54
Lomustina	12	Muphoran	14
Lonidamina	72	Mustargen	1
Losoxantrone cloridrato	55	Myelobromol	10
Losoxantrone	55	Myleran	8
Lysodren	71	Myocet	50
Mecloretamina	1	Natulan	18
Mecloretamina cloridrato	1	Navelbine	41
Mecloretamina cloridrato ossido	1	Neutrexin	20
Melfalan	5	Nipent	27
Mercaptopurina anidra	24	Novantrone	54
Methotrexate	19	Oncocarbide	69
Metotressato	19	Onkotrone	54
Metotressato monoidrato	19	Oxaliplatino	47
Metotressato sale sodico	19	Paclitaxel	42
Milosar	36	Pamidronato di sodio	73
Mithracin	60	Pamidronato di sodio anidro	73
Paraplatin	46	Tomudex	22
Pentostatina	27	Topotecan cloridrato	62
Pirimidindione	27	Topotecan	62

segue

continua

Principio attivo/Farmaco	N.	Principio attivo/Farmaco	N.
Piroxantrone cloridrato	56	Trietilentiofosforamide	7
Piroxantrone	56	Trimetrexate	20
Platamine	45	Trimetrexate D-glicuronato	20
Platinex	45	Trimetrexate monoacetato monoidrato	20
Plicamicina	60	UFT	32
Prednimustina	6	Uricemil	29
Procarbazina cloridrato	18	Uricodue	29
Pronto Platamine	45	Velbe	39
Purinethol	24	Vepesid	63
Raltitrexed	22	Vinblastina solfato	39
Raltitrexed monoidrato	22	Vinblastina	39
Razoxane	53	Vincristina	38
Sanifolin	23	Vincristina DBL	38
Stereocyt	6	Vincristina Phm	38
Streptozocina	13	Vincristina solfato	38
Streptozocina tetraacetato	13	Vincristina Teva	38
Suramina	74	Vindesina solfato	40
Taxol	42	Vindesina	40
Taxotere	43	Vinorelbina bitartrato	41
Tegafur	32	Vinorelbina	41
Temodal	16	Vumon	64
Temozolomide	16	Xeloda	34
Teniposide	64	Zanosar	13
Thioguanine	25	Zyloxic	29
Thiotepa	7		

Ringraziamenti

Si ringrazia il Professor Romano Zito per il prezioso contributo nella identificazione dei principi attivi chemioterapici.

Bibliografia

1. Hardman JG, Limbird LE (Ed.). *Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw Hill; 2001.
2. Lopez M. *Oncologia medica pratica*. I Edizione. Roma: Società Editrice Universo; 2000.
3. Parfitt K. (Ed.). *Martindale. The complete drug reference*. Thirty-second Edition. London: Pharmaceutical Press; 1999.
4. *The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. Thirteenth Edition. Withehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories Division of Merck & Co. Inc.; 2001.
5. Ministero della Salute 2002. *Banca dati farmaci file on line*. Disponibile all'indirizzo <http://www.sanita.it/farmaci/>; ultima consultazione 29/04/2002.
6. Informatore Farmaceutico. *Annuario italiano dei medicinali e dei Laboratori*. 61a Edizione. OEMF; 2001.
7. Ministero della Salute. *La Sperimentazione Clinica Dei Medicinali In Italia. 1° Rapporto Nazionale Dicembre 2001*. Disponibile all'indirizzo: <http://oss-sper-clin.sanita.it/>.
8. INSC. *Inventario Nazionale delle Sostanze Chimiche (INSC)*. File on line. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2002.

CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI: ASPETTI FARMACOLOGICI

Luciano Saso, Gaetano Mauro

*Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale, Università degli Studi
"La Sapienza", Roma*

I chemioterapici antiblastici (CA) sono farmaci citotossici utilizzati per il trattamento di patologie tumorali e non. Infatti, le proprietà immunosoppressive di alcuni CA possono essere utili anche in condizioni quali l'artrite reumatoide (metotressato e ciclofosfamide), il trapianto di organi (metotressato e azatioprina), la talassemia (idrossiurea), la psoriasi (metotressato), ecc. (1). Il loro impiego come antitumorali risale agli anni '40 quando Goodman e Gilman utilizzarono per la prima volta la mostarda azotata (mecloretamina) per il trattamento della leucemia (2). Oggi sono disponibili numerose sostanze ad attività antiblastica, di diversa origine, struttura chimica ed effetti (1, 3). Esse, come si vedrà in seguito, agiscono con meccanismi diversi (Figura 1), ma hanno in comune una citotossicità più o meno marcata.

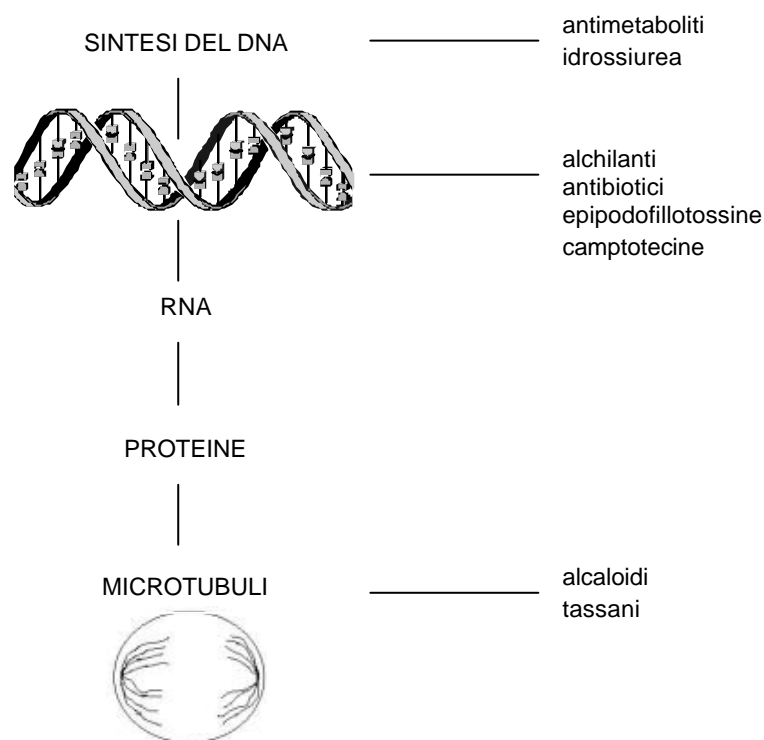


Figura 1. Meccanismo d'azione dei chemioterapici antiblastici

Poiché tale citotossicità è generalmente maggiore nei confronti delle cellule in replicazione, gli antitumorali sono generalmente poco efficaci nei confronti di tumori a basso indice di accrescimento quale il carcinoma del polmone. Purtroppo, gli CA sono solo parzialmente selettivi nei confronti delle cellule cancerose, agendo anche sui tessuti con elevato indice mitotico quali il midollo osseo, gli epitelii dei bulbi piliferi, le mucose e l'apparato riproduttore maschile e femminile (Figura 2).

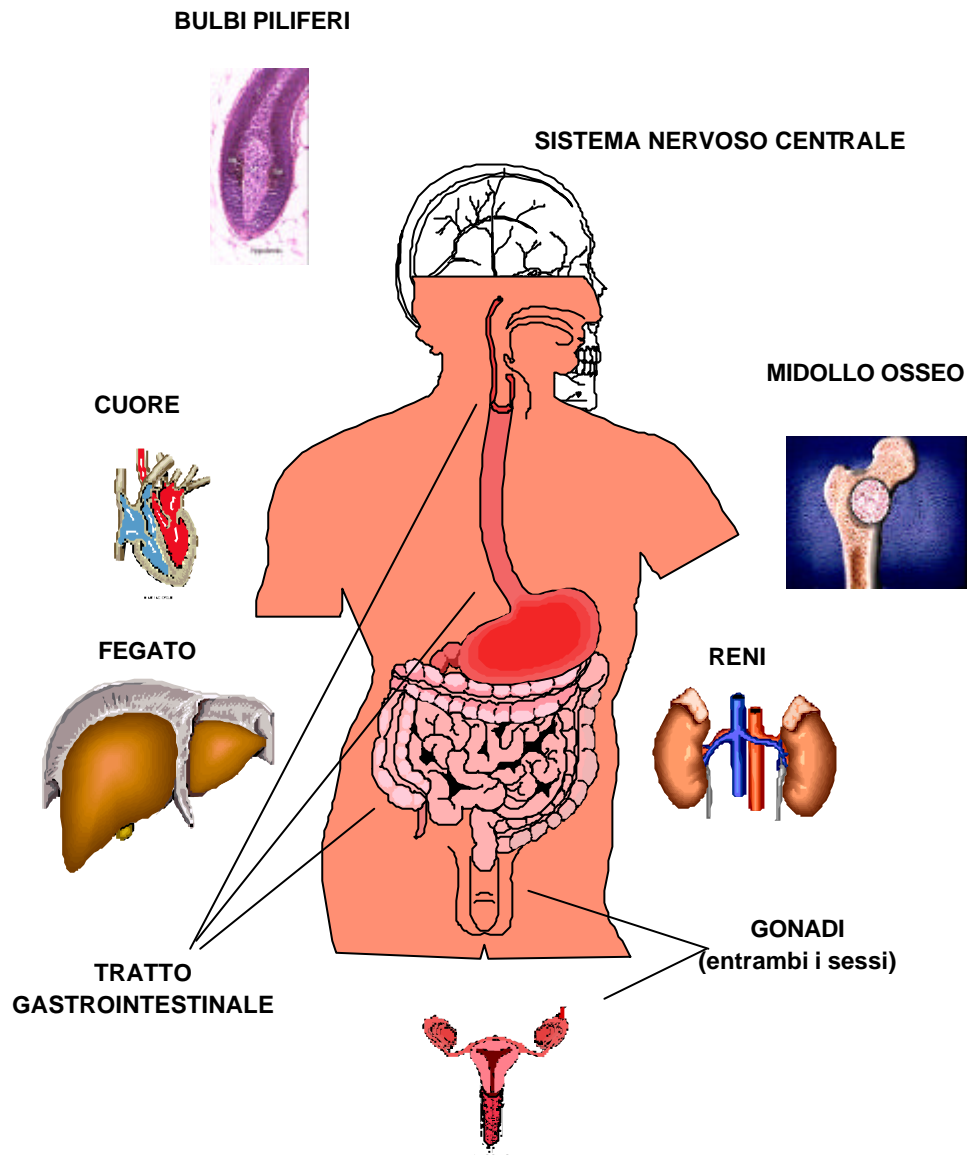


Figura 2. Tossicità dei chemioterapici antitumorali: principali organi colpiti

Ciò spiega i tipici effetti tossici dei farmaci antitumorali quali mielodepressione (anemia, immunosoppressione, ecc.), alopecia (caduta dei capelli: un effetto di per sé non grave e generalmente reversibile ma non facilmente accettato, soprattutto dalle donne), disturbi gastrointestinali (le mucose sono in continua proliferazione), amenorrea (assenza di mestruazioni nelle donne in età feconda) e oligospermia (riduzione della produzione degli spermatozoi) o addirittura azoospermia. In particolare, la tossicità riproduttiva degli CA è stata ben studiata sia nell'uomo sia negli animali da laboratorio. È noto che essi possono provocare una riduzione della fertilità sino alla sterilità (4, 5), aborti (6), gravidanze extrauterine, ecc. Inoltre, poiché il feto è un organismo in rapidissimo accrescimento (7), l'esposizione in utero agli antitumorali può provocare malformazioni congenite (teratogenesi) (8). Infine, proprio a causa delle loro proprietà citotossiche e immunosoppressive, gli antitumorali possono paradossalmente causare tumori secondari (9, 10). Infatti, non solo essi sono in grado di innescare la trasformazione di cellule normali in maligne, ma tendono a ridurre le difese endogene contro l'insorgenza di neoplasie.

Mentre per i pazienti, tali effetti tossici sono considerati purtroppo "accettabili" in vista dei possibili benefici terapeutici, essi non dovrebbero mai colpire i medici, i farmacisti, gli infermieri e gli altri operatori dei reparti oncologici. Invece, a partire dalla fine degli anni '70 (11), numerosi studi hanno dimostrato la pericolosità degli CA per gli operatori sanitari (12-14), rendendo necessaria l'introduzione di opportune linee guida che regolassero la loro manipolazione (15-17). È stato dimostrato che un'adeguata adesione a tali linee guida può ridurre al minimo o addirittura eliminare i rischi per la salute e che una buona conoscenza dei principi attivi e dei rischi associati al loro uso può migliorare l'adesione degli operatori alle suddette linee guida (18).

Pertanto, di seguito, descriveremo schematicamente i principali CA utilizzati in Italia (vedi Tabella A dell'Allegato al contributo).

Principali chemioterapici antitumorali utilizzati in Italia

A. Agenti alchilanti

Sono tutte sostanze in grado di generare nell'organismo intermedi elettrofilici molto reattivi verso sostanze fisiologiche, tra cui gli acidi nucleici (DNA ed RNA) e le proteine, provocando effetti altamente citotossici. Le cellule possono essere colpite in qualunque fase del ciclo cellulare ma sono particolarmente sensibili agli agenti alchilanti durante la replicazione (vedi Figura 1). Gli agenti alchilanti bifunzionali sono particolarmente tossici per la cellula poiché la formazione di legami crociati tra filamenti distinti di DNA è difficile da riparare.

La maggior parte degli agenti alchilanti causa grave mielodepressione. L'immuno-depressione è reversibile alle dosi normalmente impiegate nella maggioranza dei protocolli antitumorali. Molto comune è l'alopecia. Oltre agli effetti sul sistema emopoietico (cellule del sangue) gli agenti alchilanti colpiscono gravemente le mucose del tratto gastrointestinale. Inoltre, alcuni di essi hanno proprietà vescicanti (Tabella 1), e dopo impiego ripetuto danneggiano le vene. La tossicità sul sistema nervoso centrale si manifesta spesso con nausea e vomito. Tutti gli agenti alchilanti sono potenzialmente mutageni e cancerogeni. Nelle donne in età feconda tali farmaci causano un'alta incidenza di amenorrea permanente mentre nell'uomo si verifica spesso azoospermia irreversibile. Tutti gli agenti alchilanti sono potenzialmente teratogeni e devono essere evitati durante la gravidanza.

Tabella 1. Proprietà irritanti, vescicanti e cancerogene dei principali chemioterapici antitumorali

IRRITANTI	VESCICANTI	CANCEROGENI ¹		
		certi	probabili	possibili
Carmustina	Mecloretamina	Busulfan	Carmustina	Bleomicina
Dacarbazina	Vinblastina	Clorambucile	Lomustina	Dacarbazina
5-fluorouracile	Vincristina	Ciclofosfamida	Cisplatino	Daunorubicina
Cisplatino	Vinorelbina	Melfalan	Doxorubicina	Mitomicina C
	Daunorubicina	Tiotepa	Mecloretamina	
	Doxorubicina	Azatioprina	Procarbrazina	
	Idarubicina			
	Mitomicina c			
	Mitoxantrone			

Fonte: The International Agency for Research on Cancer (IARC) (<http://www.iarc.fr>)

Mostarde azotate

Sono caratterizzate dalla formula generale $R-N(CH_2-CH_2-Cl)_2$, nella quale si nota la presenza di due gruppi cloroetilici fortemente elettrofili. Le mostarde sono altamente reattive verso le basi puriniche e pirimidiniche del DNA. Essendo reagenti alchilanti bifunzionali sono in grado di dare legami crociati tra due filamenti distinti di DNA. Gli effetti tossici più comuni sono a carico del midollo osseo, con prevalenza di neutropenia. Nausea e vomito sono frequenti ma di breve durata. L'alopecia compare in genere dopo 2-4 cicli di trattamento. Il trattamento prolungato può provocare amenorrea nelle donne e oligospermia o azoospermia negli uomini.

Mecloretamina

La mecloretamina è la prima mostarda azotata introdotta in terapia ed è anche la più tossica. La sua notevole reattività ne limita gli impieghi terapeutici. In molti protocolli, la mecloretamina è stata sostituita da agenti alchilanti più stabili e meno tossici come la ciclofosfamida e il melfalan. Il farmaco, che viene somministrato per infusione endovenosa lenta o per via intracavitaria, reagisce prontamente con i composti nucleofili cellulari o con l'acqua, inattivandosi rapidamente. Gli effetti tossici della mecloretamina si esplicano a livello di vari apparati. Nausea, vomito e mielodepressione sono comuni. Essa è estremamente tossica e vescicante e può causare necrosi localizzata in caso di stravasamento. La mecloretamina è mutagena, cancerogena e teratogena in misura maggiore rispetto agli altri agenti alchilanti, a causa della sua notevole reattività.

Ciclofosfamida

È l'alchilante maggiormente utilizzato. Non è attivo di per sé, ma solo dopo l'attivazione da parte degli enzimi microsomiali epatici. Può essere somministrato per via orale o endovenosa. I suoi metaboliti sono ancora attivi e vengono eliminati con le urine. Pertanto il paziente trattato con ciclofosfamida deve essere altamente idratato per ottenere un elevato flusso urinario, al fine di evitare l'irritazione della vescica.

Ifosfamida

Questo farmaco, ha numerose caratteristiche in comune con la ciclofosfamida. Poiché è mielo- e urotossico, viene somministrato in combinazione con agenti tiolici (mesna, ecc.) per ridurre la tossicità.

Melfalan

Può essere somministrato per via orale. In queste condizioni l'assorbimento è pari a circa il 50%: una quota compresa tra il 20 e il 50% del farmaco viene ritrovata immodificata nelle feci mentre il 10-15% della dose somministrata viene escreta immodificata nelle urine.

Clorambucile

Il farmaco è assorbito per via orale e viene metabolizzato quasi completamente in circa 1,5 ore. La quota immodificata nelle urine e nelle feci è scarsa.

Etilenimine e metilmelamine

Tiotepa

Il tiotepa è un nuovo agente alchilante introdotto in terapia per la cura di alcune forme tumorali refrattarie ad altri trattamenti chemioterapici. Il farmaco viene somministrato per via parenterale e si ritrova nelle urine immodificato per una quota del 10%.

Alchil solfonati

Busulfan

Il busulfan si differenzia dagli altri agenti alchilanti per la ridotta tossicità gastrointestinale. La spiccata mielodepressione è utilizzata in terapia per la cura delle leucemie e per il trattamento di altre patologie mieloproliferative non neoplastiche. I principali effetti indesiderati del busulfan sono associati alle sue proprietà mielodepressive. Sono noti inoltre i suoi effetti tossici a livello riproduttivo, quali impotenza, sterilità e amenorrea. Il busulfan è ben assorbito dopo somministrazione orale e ha un'emivita plasmatica di 2-3 ore. Quasi tutto il farmaco viene escreto nelle urine come acido metansolfonico.

Nitrosouree

Carmustina, lomustina e semustina

Le nitrosouree sono degli agenti alchilanti bifunzionali piuttosto tossici a livello del midollo osseo e del rene ma utili per la terapia di neoplasie del sistema nervoso centrale in quanto sono molecole lipofile in grado di attraversare facilmente la barriera ematoencefalica. Esse determinano la morte cellulare con un meccanismo di azione simile a quello degli altri agenti alchilanti. La carmustina viene somministrata per via endovenosa in un'unica somministrazione lenta da non ripetersi prima di sei settimane. La lomustina e la semustina hanno caratteristiche farmacocinetiche simili alla carmustina, ma possono essere somministrate per via orale. La tossicità coinvolge principalmente il sistema emopoietico ed è molto tardiva. Dopo 4-6 settimane si può avere una brusca diminuzione del numero dei leucociti e delle piastrine.

Triazeni

Dacarbazina

La dacarbazina agisce da agente metilante dopo bioattivazione epatica. Viene somministrata per via endovenosa e ha un tempo di dimezzamento di circa 5 ore. Il 50% della dose somministrata viene escreto con le urine in forma immodificata per effetto della secrezione tubulare. La tossicità a livello del tratto gastrointestinale è notevole e più del 90% dei pazienti trattati presenta nausea e vomito dopo circa 2 ore dalla somministrazione. La mielodepressione è lieve, mentre possono presentarsi casi di tossicità epatica, alopecia e reazioni dermatologiche.

B. Antimetaboliti

Sono farmaci ciclo-dipendenti che agiscono interferendo con la sintesi degli acidi nucleici (vedi Figura 1). I più usati sono il metotressato e il 5-fluorouracile. L'azatioprina è un precursore della 6-mercaptapurina attualmente utilizzato soprattutto per il trattamento dell'artrite reumatoide.

Analoghi dell'acido folico

Metotressato

È un analogo dell'acido glutammico che compete con il diidrofolato per l'enzima diidrofolato reductasi. Esso inibisce la sintesi del DNA in quanto previene l'attivazione dell'acido diidrofolico a tetraidrofolico, un coenzima essenziale nella sintesi delle purine. Considerando tale meccanismo d'azione, si comprende la grave tossicità del farmaco per tutti i processi di replicazione cellulare dell'organismo, soprattutto a carico dei tessuti a più elevato ricambio cellulare, come il midollo osseo e gli epitelii (vedi Figura 2). Infatti, poco dopo la somministrazione di elevate dosi di metotressato, è necessario proteggere il sistema emopoietico con acido folinico (leucovorina), una forma già attiva dell'acido folico. Dato che il metotressato tende a precipitare nei tubuli renali, il paziente deve essere altamente idratato, e si deve provvedere all'alcalinizzazione delle urine. Il metotressato è molto tossico per l'embrione in sviluppo ed è capace di indurre aborti nel primo trimestre di gravidanza. Esso è prontamente assorbito dal tratto gastrointestinale ma può anche essere somministrato per via endovenosa o intratecale. A basse dosi, il 40-50% del farmaco assorbito viene eliminato immutato nelle urine mentre nel caso di dosi maggiori, la percentuale di farmaco eliminato immutato nelle urine sale a circa il 90%. Una piccola quantità di metotressato viene anche escreta con le feci grazie all'escrezione biliare. La biotrasformazione del metotressato porta alla formazione di numerosi metaboliti, tra cui il 7-idrossi-metotressato che è potenzialmente nefrotossico.

Analoghi pirimidinici

Questi composti hanno in comune la capacità di inibire la biosintesi dei nucleotidi pirimidinici o purinici, i "mattoni" essenziali che costituiscono gli acidi nucleici (DNA ed RNA) (vedi Figura 1). Si tratta in genere di "profarmaci", ovvero di sostanze di per sé inattive, che devono essere trasformate *in vivo* per esplicare la loro attività citotossica.

5-Fluorouracile

È una pirimidina fluorinata analoga dell'uracile. Non è attivo di per sé ma solo dopo incorporazione nel corrispondente deossinucleotide monofosfato o nel nucleotide trifosfato. Nel primo caso, esso inibisce irreversibilmente la timidilato sintetasi bloccando la sintesi del DNA, mentre nel secondo provoca la sintesi di RNA anomalo e quindi di proteine anomale. Viene somministrato per via endovenosa in quanto l'assorbimento orale è imprevedibile e incompleto. Il farmaco può anche essere utilizzato per via topica nel caso di tumori cutanei. Esso viene metabolizzato nel fegato e in altri tessuti. L'inattivazione avviene per riduzione dell'anello pirimidinico ad opera dell'enzima diidropirimidina deidrogenasi: infatti, il deficit genetico di questo enzima causa un notevole aumento della sensibilità al farmaco. Il 5-fluorouracile è in grado di attraversare la barriera ematoencefalica. Tra gli effetti tossici vi sono anoressia, nausea, ulcerazioni della mucosa gastrointestinale e, in alcuni casi, diarrea fulminante. La mielodepressione causa trombocitopenia e anemia. L'alopecia è comune. Sono state riscontrate alcune manifestazioni neurologiche gravi come la sindrome cerebellare acuta e la mielopatia dopo somministrazione intratecale.

Citarabina

È una sostanza analoga alla deossicitidina, che compete come inibitore della DNA polimerasi, un enzima essenziale per la sintesi e la riparazione del DNA. È un farmaco ciclo-dipendente. I suoi effetti tossici principali sono a carico del midollo osseo e del tratto gastrointestinale. Può causare anche alopecia e alterazioni neurologiche. Il farmaco viene somministrato per via endovenosa e intratecale. La somministrazione orale è sconsigliata in quanto la biodisponibilità orale è solo del 20%. Il farmaco viene ampiamente metabolizzato ad arabinosiluracile. Meno del 10% della dose somministrata viene escreta immodificata nelle urine.

Gemcitabina

La gemcitabina è un analogo del nucleoside desossicitidina. Il farmaco viene attivato dalla desossicitidina chinasi e inibisce la sintesi del DNA essendo incorporato al posto della citosina nel filamento in crescita di DNA. La gemcitabina viene somministrata per via endovenosa. Dosi terapeutiche di gemcitabina possono determinare depressione midollare grave, nausea, vomito, eruzioni cutanee e alopecia.

Analoghi purinici e relativi inibitori

Mercaptopurina e azatioprina

La 6-mercaptopurina è strutturalmente analoga all'ipoxantina. Viene incorporata nel corrispondente ribonucleotide e può quindi agire inibendo la sintesi delle purine, o portando alla formazione di acidi nucleici anomali. L'azatioprina è in grado di rilasciare lentamente 6-mercaptopurina ma, più che come antitumorale, è oggi utilizzata come immunosoppressore nell'artrite reumatoide. Il principale effetto tossico della mercaptopurina è a carico del midollo osseo. Nel 25% dei pazienti trattati si osserva anoressia e vomito. In un terzo dei pazienti trattati si sviluppa un ittero che può indicare stasi biliare e necrosi epatica. Il farmaco può essere somministrato per via orale o per via parenterale. La terapia orale è molto utilizzata ma l'assorbimento è variabile (5-40%).

Tioguanina

La tioguanina viene somministrata per via orale sebbene l'assorbimento sia molto variabile. Il farmaco viene S-metilato e solo parzialmente metabolizzato dalla xantina-ossidasi. Le manifestazioni tossiche principali, mielotossicità e disturbi gastrointestinali, sono meno marcati rispetto a quelli della mercaptopurina.

Pentostatina

La pentostatina è un analogo del prodotto di transizione della reazione dell'adenosina deaminasi ed è un inibitore potente di questo enzima. L'inibizione dell'adenosina deaminasi porta all'accumulo intracellulare di nucleotidi adenosinici e desossiadenosinici, che possono bloccare la sintesi del DNA. La pentostatina può anche inibire la sintesi dell'RNA, e il suo derivato trifosfato viene incorporato nel DNA. Le manifestazioni tossiche comprendono mielodepressione, disturbi gastrointestinali, eruzioni cutanee ed epatotossicità. A dosi alte si possono verificare anche complicanze renali, neurologiche e tossicità polmonare. La pentostatina viene somministrata per via endovenosa, ha un'emivita di 5,7 ore e viene eliminata principalmente per escrezione renale.

Cladribina

Anche per la cladribina l'effetto tossico principale è la mielodepressione. Comuni sono gli effetti tossici a livello del tratto gastrointestinale. Sono possibili anche effetti collaterali a livello del sistema nervoso centrale e reazioni dermatologiche. La cladribina viene

somministrata per via endovenosa in quanto l'assorbimento orale è imprevedibile. Il farmaco e i suoi metaboliti sono escreti con le urine.

Fludarabina

La fludarabina fosfato, somministrata per via endovenosa, viene convertita nel plasma a fludarabina. Il composto viene escreto soprattutto per via renale, per circa il 20% in forma immodificata. Il metabolismo avviene ad opera dell'adenosina deaminasi. Le manifestazioni tossiche principali sono la mielodepressione, la nausea, il vomito, l'anoressia e l'astenia ma si possono osservare anche neuropatie periferiche e alterazioni a livello del sistema nervoso centrale.

C. Prodotti naturali

Alcaloidi della Vinca

Vinblastina, vincristina e vinorelbina

Vinblastina, vincristina e vinorelbina, alcaloidi isolati dalla *Vinca rosea*, agiscono legandosi alla tubulina, una proteina citoplasmatica strutturale, la cui polimerizzazione è il primo stadio dell'assemblaggio dei microtubuli (vedi Figura 1). La formazione dei microtubuli è essenziale per il processo mitotico (replicazione cellulare), e ciò spiega l'azione antiproliferativa di queste sostanze. La somministrazione indicata è per via endovenosa a causa delle loro proprietà vescicanti. La vinblastina è eliminata più lentamente della vincristina dopo biotrasformazione epatica. La tossicità della vincristina è a carico soprattutto del sistema nervoso. Essa può infatti causare una grave neuropatia, a volte mortale, dovuta all'azione sui microtubuli degli assoni lunghi dei nervi. La vinblastina provoca invece soprattutto soppressione midollare. Questi farmaci vengono somministrati comunemente per via parenterale. Solo la vinorelbina può essere somministrata per via orale. Tutti questi farmaci vengono metabolizzati ampiamente nel fegato e quindi escreti con la bile. Una frazione pari a meno del 15% dei farmaci immodificati viene ritrovata nelle urine.

Tassani

Paclitaxel e docetaxel

Questi composti sono di natura diterpenica e contengono un anello tassanico complesso. Anch'essi inibiscono la mitosi (vedi Figura 1) ma si differenziano dagli alcaloidi della Vinca in quanto si legano alla tubulina rendendo i microtubuli eccessivamente stabili e non più funzionali. Gli effetti tossici principali sono a carico del midollo osseo. Pazienti trattati con tassani soffrono spesso di mialgie, neuropatie e aritmie cardiache. Il paclitaxel e il docetaxel vengono somministrati comunemente per infusione lenta. I farmaci vengono metabolizzati ad opera degli enzimi microsomiali epatici e meno del 10% della dose somministrata viene eliminata con le urine in forma immodificata.

Epipodofillotossine

Etoposide e teniposide

Sono prodotti naturali derivati dalla podofillotossina, estratta dalla mandragola (*Podophyllum peltatum*). Benché la podofillotossina si leghi alla tubulina in regioni diverse da quelle utilizzate dagli alcaloidi della Vinca, etoposide e teniposide non hanno effetti sulla struttura e funzione dei microtubuli. Essi formano un complesso ternario con la topoisomerasi II e il DNA che consente la rottura della doppia catena di DNA, ma non il passaggio e la richiusura successiva. Infatti, l'enzima rimane legato all'estremità libera del DNA tagliato, con conseguente accumulo di frammenti di DNA e morte cellulare. Gli effetti tossici principali

sono la leucopenia e la trombocitopenia. Molto frequenti sono le manifestazioni gastrointestinali e l'alopecia. La tossicità epatica si osserva soprattutto dopo la somministrazione di dosi elevate. L'etoposide ha un'emivita di circa 68 ore e circa il 40% della dose viene escreta con le urine come farmaco immodificato. Invece il teniposide è ampiamente metabolizzato.

Camptotecine

Irinotecano e topotecano

Sono derivati semisintetici della camptotecina, un alcaloide naturale. Causano rotture delle catene del DNA inibendo la topoisomerasi I che, a differenza della topoisomerasi II, idrolizza solo uno dei due filamenti della doppia elica.

Antibiotici

Alcuni antibiotici sono usati per il trattamento di neoplasie in virtù di alcune particolari attività citotossiche quali l'inibizione dell'enzima topoisomerasi II, l'intercalazione tra i filamenti di DNA, la chelazione di cationi divalenti quali il Fe^{2+} e la produzione di radicali liberi in grado di scindere le catene di DNA, l'interazione con le membrane cellulari, ecc.

Dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina e idarubicina

Si tratta di sostanze naturali che contengono un anello antraciclino legato ad uno zucchero atipico, la daunosamina. Questi composti hanno la capacità di intercalarsi tra le catene del DNA compromettendone la funzionalità e provocandone la rottura. Le antracicline sono metabolizzate dagli enzimi microsomiali con formazione di radicali liberi estremamente tossici per la cellula. Gli antibiotici antraciclinici possono anche interagire con le membrane cellulari alterandone le funzioni, una proprietà che sembra importante sia per l'attività che per la tossicità (es. quella cardiaca). La mielodepressione è l'effetto dose limitante principale. Stomatite, alopecia e disturbi gastrointestinali sono comuni ma reversibili. La cardiomiopatia, un effetto collaterale caratteristico di questa classe di CA, può essere acuta (raramente grave) o cronica (mortale nel 50% dei casi). Tutti gli antibiotici antraciclinici sono potenzialmente mutageni e cancerogeni. Essendo sostanze vescicanti (vedi Tabella 1), essi devono essere somministrati per via endovenosa. Penetrano scarsamente nel sistema nervoso centrale e vengono eliminati sotto forma di metaboliti attraverso la via biliare e urinaria.

Bleomicina

La bleomicina agisce scindendo le catene del DNA. In presenza di ossigeno e di un agente tiolico, il complesso farmaco- Fe^{2+} produce specie reattive dell'ossigeno (ROS) che causano la frammentazione del DNA. La bleomicina ha la caratteristica peculiare di avere uno scarso effetto mielosoppressore, per cui viene comunemente associata a farmaci con attività mielosoppressiva. L'effetto collaterale più serio è rappresentato dalla tossicità polmonare che può progredire fino alla fibrosi polmonare, associata ad elevata mortalità. Comune è l'alopecia e le alterazioni cutanee. La bleomicina viene somministrata per via sottocutanea, intramuscolare, endovenosa ed endocavitaria ed escreta con le urine in forma in gran parte immodificata.

Mitomicina C

La mitomicina agisce come agente alchilante dopo riduzione enzimatica o spontanea. Essa anche in grado di causare frammentazione dei filamenti singoli di DNA. Il principale effetto tossico della mitomicina è rappresentato dalla mielodepressione e in particolare da marcata leucopenia e trombocitopenia. I pazienti trattati con dosi eccessive di mitomicina sviluppano

una forma acuta di emolisi che può danneggiare molti tessuti. La mitomicina può provocare fibrosi polmonare interstiziale e insufficienza cardiaca congestizia. È anche un potente radiosensibilizzante ed è teratogena e cancerogena nei roditori. Viene somministrata esclusivamente per via endovenosa in quanto il suo assorbimento gastrointestinale è irregolare. Il farmaco si distribuisce in tutti i tessuti ma non passa la barriera ematoencefalica. Il 10% del farmaco immodificato viene eliminato con le urine o con la bile.

D. Agenti vari

Composti di coordinazione del platino

Cisplatino e carboplatino

Il cisplatino è un complesso del platino con due gruppi di cloro in posizione cis. Nel carboplatino, sviluppato per cercare di ridurre la marcata tossicità del cisplatino, il metallo è incorporato in una molecola organica più complessa. Per diversi aspetti essi sono simili mentre per altri si differenziano:

- reagiscono con il DNA formando legami crociati intracatena e intercatena, inibendo la replicazione e la trascrizione del DNA;
- sono attivati mediante idrolisi *in vivo* ma questa reazione è più lenta per il carboplatino. Il cisplatino possiede una maggiore affinità per le proteine plasmatiche e viene escreto lentamente per via renale. Entrambi sono somministrati per via parenterale e si distribuiscono in tutti i tessuti eccetto il sistema nervoso centrale. Entrambi vengono escreti in parte in forma immodificata;
- i composti del platino possiedono un profilo tossicologico simile anche se il carboplatino è generalmente meglio tollerato. La soppressione midollare è minore rispetto alle mostarde, mentre nausea e vomito sono forti e sempre presenti. Caratteristica è la grave nefrotossicità (prevenibile mediante abbondante idratazione) con ipomagnesia che può provocare episodi convulsivi nei bambini. Possono provocare ototossicità sino alla perdita dell'udito e neuropatie periferiche. Si può presentare anche mielodepressione, con leucopenia, trombocitopenia e anemia transitoria;
- il cisplatino e il carboplatino sono mutageni, teratogeni e cancerogeni.

Antracenedioni

Mitoxantrone

Il mitoxantrone appartiene alla classe chimica degli antracenedioni, una nuova categoria di farmaci strutturalmente correlati agli antibiotici antraciclinici. Il mitoxantrone inibisce la topoisomerasi II, provocando frammentazione del DNA e morte cellulare. Il farmaco può causare mielodepressione, nausea, vomito e alopecia. È meno cardiottossico degli antibiotici antraciclinici.

Uree sostituite

Idrossiurea

L'idrossiurea inibisce la ribonucleotide reductasi, l'enzima che catalizza la reazione di riduzione dei ribonucleotidi a desossiribonucleotidi, provocando il blocco della sintesi del DNA. Dopo somministrazione orale, viene rapidamente assorbita dal tratto gastrointestinale. Il farmaco ha un'emivita plasmatica di 2 ore e passa facilmente la barriera ematoencefalica. Circa

l'80% della dose somministrata si ritrova nelle urine entro le 12 ore. Il principale effetto tossico dell'idrossiurea è la mielodepressione, marcata ma reversibile. Comuni sono i disturbi gastrointestinali e l'alopecia.

Derivati metilidrazinici

Procarbazina

La procarbazina, dopo attivazione metabolica, è in grado di metilare il DNA. Nel meccanismo di citotossicità oltre alla metilazione sono coinvolti anche altri meccanismi che coinvolgono radicali liberi. Gli effetti tossici più comuni sono la leucopenia e la trombocitopenia, i disturbi gastrointestinali, le complicanze neurologiche e dermatologiche. La procarbazina è cancerogena, mutagena e teratogena e il suo impiego è associato a un rischio del 5-10% di leucemia acuta, che aumenta per i soggetti trattati anche con terapia radiante. Essa può causare sterilità nei soggetti di sesso maschile. Dopo somministrazione orale è assorbita quasi completamente dal tratto gastrointestinale. Essa viene metabolizzata rapidamente (emivita plasmatica pari a circa 7 secondi) ed escreta nelle urine in parte sotto forma di metaboliti citotossici.

Considerazioni conclusive

Come si è visto, i gravi effetti tossici degli CA (quali mielodepressione, nausea e vomito, mucositi e disturbi gastrointestinali, alopecia, amenorrea, azoospermia, sterilità, neurotossicità, epatotossicità, cardiotoxicità e nefrotossicità) colpiscono i pazienti neoplastici trattati con questi farmaci a dosi terapeutiche. Come documentato da numerosi studi, alcuni di essi sono stati osservati anche in operatori sanitari, e in particolare in infermieri dei reparti oncologici, prima che venissero introdotte le sopra citate linee guida per la manipolazione degli CA. La massima adesione a queste ultime da parte dei lavoratori è tuttavia necessaria per ridurre al minimo o addirittura eliminare il rischio di essere esposti ai suddetti effetti e ad altri, riportati anche recentemente:

- possibili disturbi a livello oculare, cutaneo o respiratorio (19) causati dagli CA vescicanti e/o irritanti (vedi Tabella 1);
- possibili reazioni allergiche provocate dai composti del platino (20) e da altri CA;
- possibili tumori causati dagli CA cancerogeni (vedi Tabella 1).
- possibili effetti sull'apparato riproduttivo maschile femminile con riduzione della fertilità, aumento del numero degli aborti spontanei, delle gravidanze ectopiche, delle malformazioni congenite, ecc.

Infatti, i dati di letteratura indicano che una corretta manipolazione degli CA sia in grado di ridurre al minimo tali rischi. Tuttavia, ulteriori studi sperimentali sarebbero auspicabili per valutare gli effetti acuti e cronici di miscele complesse di CA a basse dosi, quali quelle a cui gli operatori dei reparti oncologici potrebbero essere esposti.

Bibliografia

1. Calabresi P, Chabner BA. Chemotherapy of neoplastic diseases. In: Hardman JG, Limbird LE (Ed.). *Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw Hill; 2001. p. 1381-8.

2. Goodman LS, Wintrobe MM, Dameshek W, Goodman MJ, Gilman A, McLennan MT. Landmark article Sept. 21, 1946: Nitrogen mustard therapy. Use of methyl-bis(β -chloroethyl)amine hydrochloride and tris(β -chloroethyl)amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. By Louis S. Goodman, Maxwell M. Wintrobe, William Dameshek, Morton J. Goodman, Alfred Gilman and Margaret T. McLennan. *JAMA* 1984;251(17):2255-61.
3. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Garcia-Carbonero R, Calabresi P. Antineoplastic agents. In: Hardman JG, Limbird LE (Ed.). *Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw Hill; 2001. p. 1389-459.
4. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998;27(4):927-43.
5. Schrader M, Heicappell R, Muller M, Straub B, Miller K. Impact of chemotherapy on male fertility. *Onkologie* 2001;24(4):326-30.
6. Buekers TE, Lallas TA. Chemotherapy in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1998;25(2):323-9.
7. Luecke RH, Wosilait WD, Young JF. Mathematical representation of organ growth in the human embryo/fetus. *Int J Biomed Comput* 1995;39(3):337-47.
8. Partridge AH, Garber JE. Long-term outcomes of children exposed to antineoplastic agents in utero. *Semin Oncol* 2000;27(6):712-26.
9. Sieber SM, Adamson RH. Toxicity of antineoplastic agents in man, chromosomal aberrations antifertility effects, congenital malformations, and carcinogenic potential. *Adv Cancer Res* 1975;22:57-155.
10. Rieche K. Carcinogenicity of antineoplastic agents in man. *Cancer Treat Rev* 1984;11(1):39-67.
11. Falck K, Grohn P, Sorsa M, Vainio H, Heinonen E, Holsti LR. Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet* 1979;1(8128):1250-1.
12. Cloak MM, Connor TH, Stevens KR, Theiss JC, Alt JM, Matney TS, Anderson RW. Occupational exposure of nursing personnel to antineoplastic agents. *Oncol Nurs Forum* 1985;12(5):33-9.
13. Fishbein L. Perspectives on occupational exposure to antineoplastic drugs. *Arch Geschwulstforsch* 1987;57(3):219-48.
14. Sessink PJ, Bos RP. Drugs hazardous to healthcare workers. Evaluation of methods for monitoring occupational exposure to cytostatic drugs. *Drug Saf* 1999;20(4):347-59.
15. Carmignani SS, Raymond GG. Safe handling of cytotoxic drugs in the physician's office: a procedure manual model. *Oncol Nurs Forum* 1997;24(1 Suppl):41-8.
16. Watson AD, Peaston AE, Malik R, Swinney GR. Guidelines for handling antineoplastic and immunosuppressive drugs. *Aust Vet J* 1997;75(12):868-76.
17. Gruppo di lavoro dell'Associazione Italiana di Medicina Preventiva dei Lavoratori della Sanità. Summary of recommendations for a rational implementation of the ministry of health guidelines on the prevention of occupational risks in handling antineoplastic agents. *Med Lav* 2001;92(2):137-48.
18. Ben-Ami S, Shaham J, Rabin S, Melzer A, Ribak J. The influence of nurses' knowledge, attitudes, and health beliefs on their safe behavior with cytotoxic drugs in Israel. *Cancer Nurs* 2001;24(3):192-200.
19. Deschamps FJ, Marinutti-Liberge V. Risks associated with exposure to cytostatics in health care personnel. *Presse Med* 2001;30:1596-600.
20. Schena D, Barba A, Costa G. Occupational contact urticaria due to cisplatin. *Contact Dermatitis* 1996;34(3):220-1.

Allegato

Tabella A. Principali chemioterapici antitumorali utilizzati in Italia¹

	Principio attivo	Specialità	Via ²	Meccanismo d'azione	Principali effetti tossici
A. AGENTI ALCHILANTI					
MOSTARDE AZOTATE	Mecloreteamina	Mustargen ³	EV, IC	alchilazione del DNA	mielodepressione, nausea, vomito, flebiti, amenorrea, sterilità maschile
	Ciclofosfamide	Endoxan	EV, PO	alchilazione del DNA	mielodepressione, nausea, vomito, amenorrea, sterilità maschile, cistite, alopecia
	Ifosfamide	Holoxan	IV	alchilazione del DNA	tossicità renale, neurotossicità, piastrinopenia
	Melfalan	Alkeran	PO	alchilazione del DNA	mielodepressione (soprattutto piastrinopenia), amenorrea, sterilità maschile, nausea, vomito
	Clorambucile	Leukeran	PO	alchilazione del DNA	mielodepressione, amenorrea, sterilità maschile
ETILENIMINE E METILMELAMINE	Tiotepa	Thioplex	EV, IM, SC, IC	alchilazione del DNA	mielodepressione, amenorrea, sterilità maschile
ALCHIL SOLFONATI	Busulfan	Myleran	PO	alchilazione del DNA	mielodepressione, amenorrea, sterilità maschile, fibrosi polmonare, iperpigmentazione cutanea
NITROSOUREE	Carmustina	Nitrumon ³	EV	alchilazione del DNA; carbamilazione delle proteine	mielodepressione, nausea e vomito, fibrosi polmonare, tossicità renale
	Lomustina	Belustine	PO	alchilazione del DNA; carbamilazione delle proteine	mielodepressione ritardata, nausea, vomito, nefrotossicità
	Semustina ³	-	PO	alchilazione del DNA; carbamilazione delle proteine	nausea, vomito, leucopenia, piastrinopenia, epatite
TRIAZENI	Dacarbazina	Deticene	EV	alchilazione del DNA	nausea, vomito, mielodepressione

segue

1) Fonti: L'Informatore farmaceutico, OEFM (Dicembre, 2001); Banca Dati online del Ministero della Salute:

<http://www.sanita.it/farmaci>

2) Vie di somministrazione più comuni:

PO, orale; EV, endovenosa; IM, intramuscolare; SC, sottocutanea; IT, intratecale; IC, intracavitaria

3) Non in commercio in Italia

continua

	Principio attivo	Specialità	Via ²	Meccanismo d'azione	Principali effetti tossici
B. ANTIMETABOLITI					
ANALOGHI DELL'ACIDO FOLICO	Metotrexato	Metotrexato Metotressato	PO, EV, IT	inibizione della diidrolato reductasi e quindi della sintesi delle purine	mielodepressione, mucositi, aracnoiditi, neurotossicità, alopecia, tossicità epatica e polmonare
ANALOGHI PIRIMIDINICI	5-Fluorouracile	Efudix Fluorouracile	EV (PO, IC)	incorporazione fraudolenta nel DNA; inibizione della timidilato-sintetasi	mielodepressione, mucositi, nausea, vomito, atassia cerebellare
	Citarabina	Aracytin Citarabina Erpalfa	EV, SC, IT	incorporazione fraudolenta nel DNA; inibizione della DNA polimerasi	mielodepressione, mucositi, nausea, vomito, alopecia, tossicità congiuntivale e cerebellare ad alte dosi; eruzioni cutanee
	Gemcitabina	Gemzar	EV	inibizione della sintesi di timidina	mielodepressione, nausea, vomito, eruzioni cutanee e alopecia.
ANALOGHI PURINICI E RELATIVI INIBITORI	Mercaptopurina	Purinethol	PO	blocco della sintesi delle purine; incorporazione fraudolenta nel DNA	mielodepressione, nausea, vomito, mucositi, danno epatico
	Azatioprina	Azatioprina	PO	blocco della sintesi delle purine; incorporazione fraudolenta nel DNA	mielodepressione, nausea, vomito, mucositi, danno epatico
	Tioguanina	Thioguanine	PO	inibizione della sintesi delle purine	mielodepressione, nausea, vomito
	Pentostatina	Nipent	IV	inibizione della adenosina-deaminasi	mielodepressione, febbre, rash, epatotossicità, tossicità polmonare, neurotossicità
	Cladribina	Leustatin	EV	incorporazione fraudolenta nel DNA	mielodepressione, disturbi gastrointestinali, neurotossicità, reazioni dermatologiche
	Fludarabina	Fludara	EV	inibizione della DNA polimerasi	mielodepressione, neurotossicità (ad alte dosi)

segue

- 1) Fonti: L'Informatore farmaceutico, OEFM (Dicembre, 2001); Banca Dati online del Ministero della Salute: <http://www.sanita.it/farmaci>
- 2) Vie di somministrazione più comuni:
PO, orale; EV, endovenosa; IM, intramuscolare; SC, sottocutanea; IT, intratecale; IC, intracavitaria
- 3) Non in commercio in Italia

continua

	Principio attivo	Specialità	Via ²	Meccanismo d'azione	Principali effetti tossici
C. PRODOTTI NATURALI					
ALCALOIDI DELLA VINCA	Vinblastina	Velbe	EV	blocco della mitosi per inibizione della polimerizzazione della tubulina	Granulocitopenia neuropatia periferica, costipazione, alopecia, Neuropatia periferica, alopecia, costipazione
	Vincristina	Vincristina	EV	blocco della mitosi per inibizione della polimerizzazione della tubulina	mielodepressione, neuropatia periferica,
	Vinorelbina	Navelbine	EV	blocco della mitosi per inibizione della polimerizzazione della tubulina	
TASSANI	Paclitaxel	Taxol	EV	blocco della mitosi per stabilizzazione dei microtubuli	mielodepressione, alopecia, mialgia, artralgia, neuropatia
	Docetaxel	Taxotere	EV	blocco della mitosi per stabilizzazione dei microtubuli	mielodepressione, alopecia, rash cutanei, ritenzione idrica
PODOFILLO-TOSSINE	Etoposide	Etoposide Lastet Vepesid	EV, PO	inibizione della topoisomerasi II	leucopenia, vomito, nausea ipotensione, neuropatia periferica
	Teniposide	Vumon	EV	inibizione della topoisomerasi II	nausea, vomito, mielodepressione, alopecia, rare reazioni anafilattiche
CAMPTOTECINE	Irinotecano	Campto	EV	inibizione della topoisomerasi I	diarrea, mielodepressione, alopecia
	Topotecano	Hycamtin	EV	inibizione della topoisomerasi I	mielodepressione
ANTIBIOTICI	Dactinomicina	Cosmogen	EV	intercalazione tra le basi del DNA con blocco della trascrizione e della sintesi proteica	mielodepressione, mucositi, nausea, vomito, radiosensibilizzazione
	Daunorubicina	Daunoxome Daunoblastina	EV	intercalazione tra le basi del DNA; scissione delle catene del DNA: inibizione della topoisomerasi II; legame alle membrane cellulari	mielodepressione, mucositi, cardiomiopatie, alopecia, nausea, vomito, radiosensibilizzazione

segue

1) Fonti: L'Informatore farmaceutico, OEFM (Dicembre, 2001); Banca Dati online del Ministero della Salute: <http://www.sanita.it/farmaci>

2) Vie di somministrazione più comuni:

PO, orale; EV, endovenosa; IM, intramuscolare; SC, sottocutanea; IT, intratecale; IC, intracavitaria

3) Non in commercio in Italia

continua

	Principio attivo	Specialità	Via ²	Meccanismo d'azione	Principali effetti tossici
C. PRODOTTI NATURALI (continua)					
ANTIBIOTICI (continua)	Doxorubicina	Adriblastina Caelix Doxorubicina Myocet	EV	intercalazione tra le basi del DNA; scissione delle catene del DNA: inibizione della topoisomerasi II; legame alle membrane cellulari	mielodepressione, mucositi, cardiomiopatie, alopecia, nausea, vomito, radiosensibilizzazione
	Idarubicina	Zavedos	EV	intercalazione tra le basi del DNA; scissione delle catene del DNA: inibizione della topoisomerasi II; legame alle membrane cellulari	nausea, vomito, mielodepressione, mucositi, cardiotossicità
	Bleomicina	Bleomicina	EV, IM, SC	scissione delle catene del DNA; intercalazione tra le basi del DNA; inibizione della topoisomerasi II;	fibrosi polmonare, alterazioni cutanee, alopecia, reazioni febbrili acute, anafilassi
	Mitomicina C	Mitomycin C	EV	alchilazione del DNA	mielodepressione, nausea, vomito, mucositi, alopecia, letargia, febbre, sindrome emolitica uremica
D. AGENTI VARI					
COMPOSTI DI COORDINAZIONE DEL PLATINO	Cisplatino	Platinex Citoplatino Platamine Cisplatino	EV	intercalazione tra le basi del DNA; alchilazione del DNA	danno tubulare renale, ototossicità, mielodepressione, nausea, vomito, neuropatia periferica simili a quelli del cisplatino
	Carboplatino	Paraplatin Carboplatino	EV	intercalazione tra le basi del DNA; alchilazione del DNA	
ANTRACENEDIONI	Mitoxantrone	Novantrone	EV	inibizione della topoisomerasi II e legame al DNA	nausea, mielodepressione, sporadica cardiotossicità, alopecia
UREE SOSTITUIITE	Idrossiurea	Hydrea Oncocarbide	PO	inibizione della ribonucleotide reductasi e quindi della riparazione e replicazione del DNA	nausea, vomito, mielodepressione
DERIVATI METIL-IDRAZINICI	Procarbazina	Natulan	PO	alchilazione del DNA	mielodepressione, nausea, vomito

1) Fonti: L'Informatore farmaceutico, OEFM (Dicembre, 2001); Banca Dati online del Ministero della Salute: <http://www.sanita.it/farmaci>

2) Vie di somministrazione più comuni:

PO, orale; EV, endovenosa; IM, intramuscolare; SC, sottocutanea; IT, intratecale; IC, intracavitaria

3) Non in commercio in Italia

CENNI DI FISIOPATOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE UMANA: FARMACI ANTINEOPLASTICI E SISTEMA RIPRODUTTIVO

Alessandra Pera
Dipartimento di Medicina del Lavoro, ISPESL, Roma

Introduzione

Lo scopo di questo capitolo è descrivere brevemente i processi fisiologici coinvolti nella maturazione delle cellule germinali femminili e maschili, nonché gli eventi che dalla fusione dei due gameti portano alla formazione dello zigote e al suo impianto nell'endometrio. In ultima analisi cercare, tramite dati della letteratura, di fornire indicazione sugli effetti che la chemioterapia determina sul sistema riproduttivo di chi è sottoposto a tali protocolli terapeutici.

Fisiologia della riproduzione femminile

Maturazione e trasporto dell'ovulo, fecondazione, impianto, gravidanza e lattazione

Le cellule germinali femminili

Il corso seguito dalle cellule germinali femminili è assai diverso da quello delle cellule maschili. La differenziazione dell'ovaio primitivo che avviene nell'embrione femminile, comporta la replicazione delle cellule germinali e la successiva differenziazione in oogoni e oociti primari.

Ad un embrione di 5 mesi di vita corrisponde una popolazione di circa 6-7 milioni di cellule germinali. La femmina raggiunge in questo stadio dello sviluppo il massimo numero degli oociti che avrà in tutto l'arco della vita. Alcuni di questi cominciano a formare dei primordiali follicoli, mentre altri restano indifferenziati. Le cellule germinali si arrestano nella profase tardiva corrispondente alla prima divisione meiotica, e progrediranno poi solo alcuni anni dopo nel periodo dell'ovulazione (1, 2).

La maturazione dell'oocita

Fino a circa 36 ore prima dell'ovulazione l'oocita si mantiene nella condizione di arresto meiotico. In questa condizione esso è caratterizzato da un grosso nucleo circolare di tipo vescicolare (follicolo di Graaf).

La successiva maturazione del follicolo di Graaf comporta contemporanee modificazioni dell'oocita contenuto al suo interno. Al raggiungimento del picco di LH (ormone ipofisario) a metà ciclo si riattiva la meiosi. Si ha in questa fase il rilascio di una piccola vescicola citoplasmatica priva di organuli, il primo globulo polare espulso dall'oocita, contenente cromosomi che sono così messi da parte.

La seconda divisione meiotica porta alla formazione di un secondo globulo polare di dimensioni simili al primo, che si completa solo se lo spermatozoo penetra nella cellula uovo. L'uovo non fecondato possiede un numero $n = 23$ aploide di cromosomi.

Al momento dell'ovulazione l'ovocita umano ha un diametro pari a circa 150-200 μ . Lo circonda un involucro proteico, la zona pellucida, di spessore approssimativo 20 μ . Uno strato di cellule follicolari forma sull'ovocita il cosiddetto cumulo ooforo.

Si definisce come corona radiata l'insieme delle cellule follicolari, disposte a strati in maniera radiale, a chiusura della zona pellucida. Queste cellule hanno proiezioni sia all'interno sia attraverso la zona pellucida, stabilendo così dei contatti citoplasmatici con la membrana dell'ovocita, detta membrana vitellina. In questa fase l'ovocita è pronto ad essere fecondato (1, 2).

Struttura delle tube di Falloppio

Non appena rilasciato dall'ovaio, l'ovocita è captato dalle tube di Falloppio, struttura che svolge funzioni essenziali nel processo riproduttivo; nel suo lume avviene il passaggio dell'ovocita a seguito della rottura del follicolo, la fecondazione e le successive divisioni cellulari che rappresentano i primi stadi della vita umana. Dopo tre giorni, l'uovo fecondato si trasferisce in utero.

La struttura della tuba di Falloppio è altamente specializzata per le sue varie funzioni:

- l'estremità è occupata dalle fimbrie che rivestite da epitelio ciliato battono in direzione del lume tubarico, determinando la direzione di qualsiasi sostanza vi scorra verso la cavità uterina;
- l'ovocita circondato dalle cellule del cumulo ooforo giunge a contatto con le ciglia della fimbria che lo spingono verso l'ostio tubarico;
- le ciglia fimbriali sono capaci di rigenerarsi ciclicamente. Sebbene questo processo sia pronunciato nella scimmia Rhesus, è stato osservato anche negli esseri umani e sembra essere influenzato dal regime estrogenico (3, 4).

La muscolatura che circonda la tuba di Falloppio può giocare un ruolo importante nel trasportare lungo il lume tubarico l'ovocita (5). La concentrazione ridotta di estrogeni ad esempio, che precede l'ovulazione coincide con l'aumento della contrattilità tubarica. Anche le prostaglandine intervengono sulla contrattilità tubarica e compaiono nel fluido tubarico sia prima che dopo l'ovulazione in alte concentrazioni. Durante la permanenza nella tuba (72 ore) l'ovocita se fecondato continua a dividersi passando dallo stadio di 8 cellule a 16 (4).

La fecondazione

La fecondazione deve essere preceduta dall'appropriata maturazione sia del gamete maschile che di quello femminile. Nella femmina, la maturazione avviene con la metafase della seconda divisione meiotica che si verifica all'interno del follicolo ovarico; dopo il rilascio dall'ovaio, l'ovocita è pronto per il processo finale della maturazione che si verifica al momento della fecondazione.

Gli spermatozoi rilasciati hanno già completato la meiosi, ma prima di acquistare la capacità di fecondare devono subire nel tratto riproduttivo femminile delle modificazioni. La fecondazione ha inizio quando lo spermatozoo captato viene a contatto con l'ovocita e il suo rivestimento cellulare. Infatti, prima di raggiungere l'ovocita deve attraversare i seguenti strati: il cumulo ooforo, la corona radiata e la zona pellucida. Le cellule del cumulo ooforo sono incastrate in una matrice vischiosa ricca di acido ialuronico e l'acrosoma, localizzato sulla testa

dello spermatozoo contiene l'enzima ialuronidasi in grado di depolimerizzare l'acido ialuronico. È ragionevole supporre quindi che la ialuronidasi giochi un ruolo fondamentale nel processo di dissoluzione del cumulo, processo che viene completato dall'azione delle ciglia delle tube di Falloppio. Una volta raggiunta la zona pellucida lo spermatozoo va quindi incontro a quel processo definito reazione acrosomiale, che scatenato da specifiche proteine, comprende la fusione e la distruzione finale della membrana spermatica e della membrana acrosomiale esterna con il rilascio del contenuto dell'acrosoma. Il rilascio degli enzimi acrosomiale e dell'acrosina determina la formazione di un tunnel attraverso la zona pellucida e lo spermatozoo si viene a trovare nello spazio perivitellino. La fase successiva è il legame alla membrana oocitaria in seguito al quale si hanno rapide modificazioni del potenziale di membrana che prevengono la penetrazione di ulteriori spermatozoi. Lo spermatozoo viene poi incorporato nel citoplasma dell'oocita completando il processo di penetrazione (5).

Il concepimento

Quando la testa dello spermatozoo entra nell'ooplasma, il suo materiale cromosomico è fittamente ammassato e quando i cromosomi si srotolano, sotto l'influenza del citoplasma dell'oocita, la testa dello spermatozoo si trasforma nel pronucleo maschile, contemporaneamente il nucleo dell'oocita forma il pronucleo femminile. Entrambi aumentano di dimensioni e migrano verso il centro della cellula uovo congiungendosi. In questo momento la cellula contiene un numero diploide di cromosomi e contemporaneamente si verifica la I divisione mitotica che porta allo stadio di due cellule.

Il prodotto del concepimento raggiunge la cavità uterina al terzo giorno di sviluppo alla stadio di 8-16 cellule e in 2-3 giorni si trasforma in blastocisti. Questa è composta da una cavità piena di liquido circondata da uno strato di cellule trofoblastiche, alla sua periferia si trova un aggregato di cellule da cui si svilupperà il feto. Il trofoblasto periferico darà origine alla placenta e fino a questo stadio la blastocisti è circondata dalla zona pellucida. Durante questo periodo si verifica il processo di "chiusura" in relazione al quale si determina un'apertura della zona pellucida e la blastocisti è libera (5, 6).

L'impianto

L'impianto inizialmente è caratterizzato dall'adesione all'epitelio dell'endometrio del tessuto trofoblastico adiacente alla massa cellulare interna. Successivamente il trofoblasto comincia ad invadere il tessuto endometriale ed entro 3-5 giorni l'embrione è annidato nello stroma endometriale. Le fasi descritte dall'evoluzione all'impianto si possono sintetizzare come segue (6):

- l'oocita dopo l'ovulazione è trasferito nell'ampolla dell'ovidutto per azione delle ciglia delle cellule che rivestono le fimbrie e la porzione distale delle tube di Falloppio;
- la penetrazione dello spermatozoo si ha nell'ampolla. Entro 12 ore si ha la formazione del pronucleo sia maschile che femminile;
- entro 38 ore dalla penetrazione dello spermatozoo si ha la prima divisione mitotica;
- alla fine del terzo giorno, lo zigote attraverso divisioni successive raggiunge lo stadio di morula (8-16 cellule) e giunge in utero;
- le cellule del trofoblasto cominciano ad organizzarsi formando una zona di adesione diretta contro l'epitelio uterino e comincia l'invasione dell'endometrio;
- al 14° giorno l'impianto è completo. L'embrione si trova così all'interno del tessuto endometriale.

Fisiologia dell'apparato riproduttivo maschile

Spermatogenesi, maturazione e trasporto ematico

Nel maschio adulto normale la produzione degli spermatozoi è un processo continuo, inizia alla pubertà e continua durante la senescenza sebbene in modo meno efficiente.

I testicoli forniscono un continuo apporto di spermatozoi che vengono trasportati e immagazzinati nelle strutture accessorie dell'apparato riproduttivo (epididimo) fino al momento dell'eiaculazione. La differenziazione e la maturazione delle cellule spermatiche avviene nel testicolo e nell'epididimo. La spermatogenesi è influenzata dal testosterone, prodotto dalle cellule interstiziali del Leydig (7).

Comprendere i meccanismi che regolano lo sviluppo e la maturazione spermatica sono importanti per comprendere i meccanismi biologici della fertilizzazione, per sviluppare i protocolli e i sistemi di controllo della fertilità maschile e per pianificare eventuali terapie.

Cellule germinali primordiali

Nell'embrione umano, le cellule germinali primordiali possono essere distinte a circa 24 giorni di sviluppo. In questo periodo sono localizzate nel sacco vitellino. Le cellule si dividono per mitosi verso la 4-5 settimana migrano nella gonade primitiva, localizzandosi nelle creste genitali. Aumentano di numero rapidamente per mitosi sia durante che dopo la fase migratoria. Al 42° giorno circa 1300 cellule primordiali, che diventeranno successivamente oogoni o spermatogoni, sono presenti nella gonade differenziata.

Nella fase iniziale di differenziazione testicolare, le cellule germinali primordiali sono distribuite in modo uniforme nei tubuli seminiferi: restano quiescenti durante l'infanzia, ma all'inizio dell'adolescenza gli spermatogoni cominciano a proliferare dividendosi per mitosi e dando origine agli spermatociti primari. La meiosi non si verifica prima della pubertà (7, 8).

Spermatogenesi

La spermatogenesi è l'insieme di una serie di eventi durante i quali gli spermatogoni indifferenziati con i loro 46 cromosomi (diploide 2N) vengono trasformati in spermatozoi che hanno solo 23 cromosomi (aploide NV). Nei tubuli seminiferi, gli spermatogoni si dividono per mitosi formando spermatociti che alla pubertà vanno incontro a divisione riduzionale (meiosi) producendo gli spermatociti secondari, con corredo cromosomico aploide. Gli spermatociti secondari si dividono ulteriormente in spermatidi. Il passaggio da spermatidi a spermatozoo è un processo di maturazione conosciuto come spermiogenesi. Sebbene la divisione nucleare è completa negli spermatociti primari e secondari e negli spermatidi, la divisione del citoplasma è incompleta (9,10).

Spermiogenesi

La spermiogenesi è il processo che porta alla formazione degli spermatozoi maturi. Le tappe principali in questo processo sono la formazione di un cappuccio acrosomiale, l'allungamento e la condensazione del nucleo spermatico, la formazione della coda dello spermatozoo o flagello. All'interno dei tubuli seminiferi si possono osservare cellule in differenti stadi di maturazione: spermatogoni, spermatociti primari e secondari, spermatidi. Il ciclo spermatogenico dura circa 53 giorni nell'uomo.

Controllo endocrino

Il tessuto connettivo, che sostiene i tubuli seminiferi, contiene le cellule del Leydig che producono testosterone e che sono la principale fonte di androgeni testicolari; queste cellule sono sotto l'influenza dell'ormone luteinizzante ipofisario (LH), chiamato anche ormone stimolante delle cellule interstiziali. Esiste una relazione reciproca tra il rilascio di LH e la produzione di testosterone: in assenza di LH, cessa la produzione di testosterone e quindi anche la spermatogenesi e il controllo da parte del sistema nervoso centrale diventa critico (8, 11-13).

Nell'adulto la stimolazione dell'FSH agisce indirettamente sulle cellule del Sertoli, stimolando la produzione delle proteine leganti gli androgeni (ABP) che collegandosi al testosterone mantengono alte le concentrazioni degli androgeni nei testicoli. Le cellule del Sertoli sono localizzate fra l'epitelio dei tubuli seminiferi in stretta relazione con i vasi sanguigni e linfatici e producono l'inibina un ormone che agisce sull'ipofisi inibendo l'FSH (13-15).

Farmaci antiblastici e loro tossicità sul sistema riproduttivo

La maggior parte dei farmaci antiblastici agisce su una o più fasi del ciclo cellulare e una buona comprensione della cinetica del ciclo stesso è importante per poterne capire sia l'uso che gli effetti collaterali.

La formulazione chimica e la loro azione sono state già ampiamente trattate nei capitoli precedenti, ma un breve cenno sulla specifica tossicità riproduttiva sembra comunque utile.

I farmaci antiblastici possono essere raggruppati sulla possibilità che essi agiscano sulle cellule attivate nel ciclo cellulare (ciclo specifico) o no (ciclo non specifico) e se l'agente è ciclo specifico l'attività è confinata ad una o più fasi. Teoricamente la sensibilità di una "cellula tumorale" verso un farmaco dovrebbe essere maggiore se un'ampia popolazione di cellule sta procedendo nel ciclo cellulare al momento dell'esposizione al farmaco stesso. Questo è legato al fatto che i farmaci antiblastici agiscono sui processi della divisione cellulare (sintesi del DNA o fase S) o la fase G_1 o la fase di divisione (fase mitotica o fase M). Le cellule in fase G_0 sono praticamente resistenti a tutti i farmaci disponibili.

Tutte le cellule hanno un comportamento simile durante le varie fasi della divisione cellulare, anche se esistono differenze di durata del ciclo cellulare. Ricordiamo schematicamente le varie fasi: fase pre-sintetica (G_1); sintesi del DNA (Fase S); fase post-sintetica di intervallo (G_2); mitosi (M) durante la quale la cellula in fase G_2 contenente un complemento doppio di DNA si divide nelle due cellule figlie G_1 . Ognuna delle due cellule rientra nel ciclo cellulare oppure passa in uno stadio non proliferativo definito G_0 . Le cellule di tessuti specializzati possono andare incontro a differenziazione non potendosi più dividere. Molte cellule specie quelle dei tumori ad accrescimento lento possono rimanere nello stadio G_0 per lunghi periodi di tempo ed entrare solo più tardi nel ciclo della divisione cellulare (Figura 1).

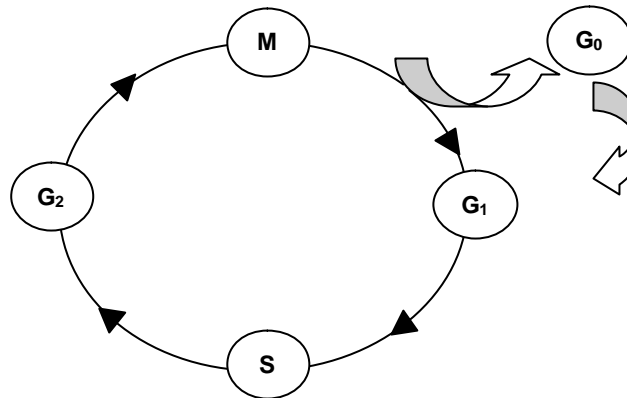
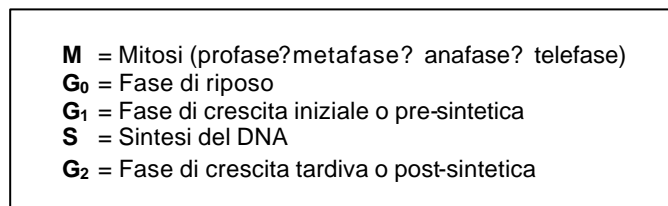


Figura 1. Il ciclo cellulare

Danni riproduttivi nella donna

Sin dall'inizio del loro uso nella terapia di patologie tumorali, gli antiblastici sono stati identificati come altamente dannosi per la funzione riproduttiva. Mancano comunque studi veramente esaustivi; le difficoltà derivano dal fatto che i dati sui pazienti trattati con tali farmaci sono spesso non confrontabili e talvolta discordanti.

È chiaro che l'uso dei chemioterapici soprattutto nei soggetti in età fertile o pre-puberale pone tanti interrogativi ai quali non sempre siamo in grado di dare una risposta, e la domanda più frequente è "Sarò in grado di avere figli?".

Durante l'età pre-puberale e puberale ad esempio le più frequenti patologie che richiedono l'uso dei farmaci antiblastici sono i linfomi, le leucemie e le glomerulonefriti croniche, e come mostra una delle poche rassegne effettuate in questo campo (13) le maggiori alterazioni durante l'età della pubertà si avevano nei trattamenti politerapici (vincristina/metotrexate/6 mercaptopurine/ciclofosfamide) nell'ordine del 20-60%. Particolare importanza in questi casi riveste l'età dei pazienti e l'inizio della terapia.

Le alterazioni più frequenti, indotte dagli antiblastici, risultano essere comunque quelle legate alla funzione ovarica e al ciclo mestruale, in particolare è l'amenorrea l'evento che si manifesta con maggiore frequenza (16).

Questi effetti sono stati descritti in pazienti trattate con la maggior parte dei farmaci antiblastici: gli agenti alchilanti la cui azione si esplica in base alla capacità di alchilare i componenti del DNA (la ciclofosfamide, le mostarde azotate, clorambucile), gli alchil solforati (busulfano), le nitrosouree, gli antimetaboliti (metotressato) che occupano un posto speciale nella chemioterapia antiblastica in quanto hanno prodotto le prime sorprendenti, se pur

temporanee, remissioni della leucemia e la prima guarigione da un tumore solido come il coriocarcinoma. Sono però purtroppo altamente tossici per gli embrioni, provocando aborto specialmente durante il primo trimestre della gravidanza. I principali effetti tossici del metotrexato si esercitano sul midollo spinale e sull'epitelio intestinale: il numero degli elementi cellulari del sangue diminuiscono e compaiono ulcerazioni delle mucose. In alcuni casi il trattamento associato con ciclofosfamide (CF) metotrexate e/o 5 fluoracile (5-FU) producevano lo stesso effetto; tuttavia il contributo individuale alla ridotta funzionalità ovarica da parte degli ultimi singoli composti non è stato chiarito. Queste osservazioni negli esseri umani sono state motivate da una serie di studi con CF eseguiti sui ratti per chiarire meglio il meccanismo della tossicità ovarica. È stato dimostrato che 1 CF riduceva il numero dei follicoli antrali entro 24 ore dall'iniezione intraperitoneale della sostanza. Tuttavia, in altri studi erano i follicoli primordiali a ridursi. Uno studio recente ha riportato che la fosforamide (metabolica del CF) era di gran lunga più potente del ciclofosfamide nel distruggere i follicoli primordiali e antrali nei topi, facendo supporre che questa sia la forma realmente ootossica (17), ma i capitoli successivi tratteranno in maniera esaustiva la parte sperimentale.

La maggior parte degli studi concorda nel riportare variazioni del ciclo mestruale da 0 a 49%, tanto che alcuni autori suggeriscono l'uso concomitante di contraccettivi orali (chiaramente in relazione al tipo di neoplasia) per cercare di proteggere l'ovaio.

I farmaci citotossici e gli antimetaboliti inducono nei ratti e nei topi uno sviluppo fetale anomalo e il danno si è visto essere dipendente dalle dosi utilizzate e dallo stadio embriogenetico (come trattato nei capitoli successivi). Nella donna, il metotrexate, antagonista dell'acido folico, è embriotossico e in letteratura sono stati riportati casi con assenza delle ossa frontali, difetto delle coste e assenza delle dita da madri che erano state sottoposte a terapia durante il primo trimestre della gravidanza (18).

Analoga azione si registra per il ciclofosfamide. La reale incidenza e l'entità degli effetti teratogeni di questi agenti, come la loro responsabilità nel determinare l'aborto spontaneo attendono ulteriori conferme (vedi capitolo sull'evidenza epidemiologica)

Danni riproduttivi nell'uomo

Il declino della funzione riproduttiva è stata osservata più volte nei malati neoplastici. Uno studio di Blackman (19) riportava che nei pazienti con neoplasia polmonare i livelli ematici di testosterone erano ridotti rispetto al gruppo di controllo come in altri si riportavano livelli di LH aumentati in circa il 50% dei soggetti, in altri i livelli erano normali o diminuiti.

La genesi dell'ipogonadismo sicuramente risulta multifattoriale. Gli ormoni prodotti in sede ectopiche nelle sindromi paraneoplastiche possono alterare i sistemi di *biofeed-back* della sfera riproduttiva; come è normale che gli steroidi sessuali vengano metabolizzati in maniera alterata dalle cellule tumorali.

Per quanto riguarda la terapia con antiblastici, questa sarebbe responsabile delle alterazioni dell'FSH tramite la sua azione sulle cellule della linea germinale. È noto infatti come il delicato meccanismo che regola l'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo possa essere influenzato dalla somministrazione di questi farmaci con alterazione dell'escrezione di prolattina, LH, FSH e conseguentemente ipogonadismo.

Numerosi studi in campo riproduttivo sono stati effettuati sui pazienti affetti dal morbo di Hodgkin. In questi casi la polichiemoterapia determina rapidamente azoospermia indipendente dallo stadio della malattia e dall'età del paziente (20).

Nel follow-up dei pazienti il 20% recupera la condizione primitiva dei parametri seminali come riportato da alcuni autori. Anche il quadro ormonale risulta alterato con valori di LH che variano dal normale e/o lievemente superiore alla norma e livelli di FSH decisamente

aumentati, mentre il testosterone rimane a livelli normali. Alcuni autori riportano una diminuzione della libido nel 70% dei pazienti sottoposti a chemioterapia e il 40% mantiene il disturbo anche dopo la sospensione della terapia; mentre l'impotenza sembra essere un sintomo transitorio (19, 21, 22).

Tra i vari farmaci impiegati è la ciclofosfamide quella che sembra avere gli effetti maggiori sulla funzione testicolare con produzione di azoospermia persistente; Kreuser in un lavoro del 1988 riportava nel follow-up a 11 anni azoospermia nel 100% dei casi trattati con COOP (ciclofosfamide, vinvristina, procarbazina, prednisone) (23).

Schemi terapeutici con ABVD (adriamicina, bleomicina, vinblastina, decarbazina) producono oligozoospermia e azoospermia con recessione completa dopo 1 anno dalla fine del trattamento.

Bibliografia

1. Mastroianni L, Paulsen CA (Ed.). *Aging, reproduction, and the climateric*. New York and London: Plenum Press; 1986.
2. Metz CB, Monroy A (Ed.). *Biology of fertilization*. Orlando: Accademic Press; 1985.
3. Lippes J, Enders RG, Pragay DA, Bartholomew WR. The collection and analysis of human fallopian tube fluid. *Contraception* 1982; 5(2):85-103.
4. Diaz S, Ortiz ME, Croxatto HB. Studies on the duration of ovum transport by the human oviduct. The time interval between the luteinizing hormone peak and recovery of ova by transcervical flushing of the uterus in normal women. *Am J Obstet Gynecol* 1980;137:116.
5. Coutinho EM, Mala HS. The contractile response of the human uterus, fallopian tubes and ovary to prostaglandins in vivo. *Fertil Steril* 1971;22:539-43.
6. Deïinker HW. Basic aspects of ova implantation. *Obstet Gynecol Ann* 1983;12:15-42.
7. Glasser SR. Current concepts of implantation and decidualization. In: Hoszar C (Ed). *The physiology and biochemistry of the uterus in pregnancy and labor*. Boca Raton, Florida; 1986.
8. Mastroianni L, Biggers J (Ed.). *Fertilization and embryonic development in vitro*. New York: Plenum Press; 1982.
9. Mann T, Lutwak-Mann C. *Male reproductive function and semen*. New York: Springer-Verlag; 1981.
10. Haas GG, Beer AE. Immunologic influences on reproductive biology: Sperm-gametogenesis and maturation in the male and female genital tracts. *Fertil Steril* 1986; 46:753-66.
11. Bardin CW, Sherins RJ (Ed.). The cell biology of the testis. *Ann NY Acad Sci* 1982; 383.
12. Yen SSC. The human menstrual cycle. In: Yen SSC, Jaffe RB (Ed.). *Reproductive endocrinology*. Philadelphia: Saunders; 1986. p. 200-36.
13. Harper NJK. Gamete and zygote transport. In: Knobil E, Neill J (Ed.). *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press; 1988. p. 103-34.
14. Candell FR, Swerdeloff RS. Role of temperature in regulation of spermatogenesis and the use of heating as a method of contraception. *Fertil Steril* 1988;49:1-23.
15. Russell LD. Spermiation – the sperm release process: ultrastructural observations and unresolved problems. In: Van Blerkom J, Motta PM (Ed.). *Ultrastructure of reproduction*. The Hague: Martinus Nijhoff; 1984. p. 46-66.
16. Romagnolo C, Marchesini D, Maggino T. Antiblasic chemotherapy and reproductive life. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1988;15:38-46.

17. Hoyer PB, Sipes G. Assessment of follicle destruction in chemical-induced ovarian toxicity. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1996;36:307-31.
18. Hausknecht RU. Methotrexate and misoprostol to terminate early pregnancy. *N Engl Med J* 1995; 333: 537-40.
19. Blackman MR, Weintraub BD, Rosen SW. Comparison of lung cancer, benign lung disease and normal aging on pituitary-gonadal function in men. *J Clin Endocrin Metab*, 1988;66:88.
20. McGuire WP, Hoskins WJ, Brady MF, Kucera PR, Partridge ED, Look KY, Clarke-Pearson DL, Davidson M. Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer. *New Engl J Med* 1996;334:1-6.
21. Bonadonna G, Santoro A, Viviani S. Gonadal damage in Hodgkin's disease from cancer chemoterapic regimens. *Arch Toxicol* 1984;7:140.
22. Greenway B, Iqbal MJ, Johnson PJ, Williams R. Low serum testosterone concentrations in patients with carcinoma of the pancreas. *Br Med J* 1983;286:93-5.
23. Kreuser ED, Xiros N, Hetzel WE, Heimpel H. Reproductive and endocrine gonadal capacity in patients trated with COOP chemotherapy for Hodgkin's disease. *Cancer Res* 1988;113:260-6.

RISCHI PER LA SALUTE DEGLI ESPOSTI AD ANTIBLASTICI IN AMBIENTE OSPEDALIERO. L'EVIDENZA EPIDEMIOLOGICA: SINTESI DELLA LETTERATURA

Irene Figà-Talamanca

Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo, Università degli Studi "La Sapienza", Roma

La migliore evidenza sul rapporto tra esposizioni a farmaci chemioterapici e danni alla salute proviene da osservazioni cliniche e studi di follow-up di pazienti trattati con questi farmaci a scopo terapeutico. Da queste osservazioni risulta che alcuni chemioterapici, a fronte di rilevanti benefici terapeutici, costituiscono un importante fattore di rischio per effetti collaterali, non solo immediati, ma anche a lungo termine aumentando il rischio per tumori e per danni all'apparato riproduttivo.

Solo alla fine degli anni '70, e in seguito alla descrizione di alcune esposizioni accidentali di operatori sanitari, con manifestazioni acute di tipo allergico e di epatopatie, ci si è chiesti se esisteva un rischio a lungo termine per la salute degli operatori addetti alla preparazione e somministrazione dei chemioterapici.

La preoccupazione era ben fondata, dato che gli studi successivi hanno confermato effetti mutageni e cancerogeni, oltre a danni alla salute riproduttiva del personale femminile.

Effetti mutageni e cancerogeni

L'effetto mutageno è stato osservato solo in alcuni degli studi. Esaminando ad esempio la mutagenicità delle urine di infermiere del reparto di oncologia in confronto alle infermiere di altri reparti, uno studio ha constatato una maggiore prevalenza di positività tra le infermiere oncologiche, con un gradiente dose-risposta secondo il numero di dosi preparate (1). Uno studio più recente condotto in Danimarca e in Cecoslovacchia ha riscontrato un tasso maggiore di rotture e aberrazioni cromosomiche nel personale addetto alla preparazione di ciclosfamide (2). La valutazione dell'effetto mutageno è tuttavia complicato sia da problemi di natura tecnico-analitico, che dal problema di confondimento a causa di esposizione a mutageni non lavorativi, in particolare il fumo di sigaretta attivo o passivo.

Le responsabilità degli antiblastici nel determinare i vari effetti mutageni (es. micronuclei e aberrazioni cromosomiche) è stata comunque confermata anche da studi che hanno mostrato che laddove si attuano misure di sicurezza, si osserva l'annullamento o la riduzione di questi effetti (3-5).

Il problema tuttavia permane in situazioni dove non si è ancora preso coscienza del rischio. Un recente studio condotto in Turchia, ad esempio, ha riscontrato effetti mutageni (alta frequenza di micronuclei in linfociti periferici e in cellule epiteliali della bocca) in infermiere oncologiche (6).

L'effetto cancerogeno per i lavoratori professionalmente esposti a chemioterapici è stato esplorato in vari studi epidemiologici, tuttavia solo due, entrambi condotti in Danimarca, hanno focalizzato l'attenzione sugli esposti ad antiblastici.

Nel primo studio il registro di un'associazione di medici è stato confrontato con il registro tumori, per identificare tutti i casi di leucemia e di linfomi non Hodgkin. A seguito dell'identificazione di 45 casi tra i medici si è proceduto ad uno studio caso controllo per stimare, tra gli esposti, il rischio relativo. Questo è risultato 2,85 (IC 95%: 0,51-16,02) per la leucemie e 0,74 (IC 95%: 0,13-4,26) per i linfomi non Hodgkin. Il risultato ha destato preoccupazione, senza comunque rispondere al problema in modo conclusivo (7).

Gli stessi autori hanno proseguito con uno studio di coorte storico su 794 infermiere oncologiche. I risultati, provenienti da osservazioni per 5.636 anni-persona, hanno rilevato un rischio relativo di leucemia 10,7 (IC 95%: 1,3-38,5), basato su solo due casi (8). Ambedue le infermiere avevano lavorato preparando e somministrando giornalmente dosi di chemioterapici. Anche se il risultato è suggestivo, il basso numero dei casi non consente di attribuire con sicurezza la malattia all'esposizione ad antitumorali.

Anche un altro studio condotto tra le donne addette alla preparazione di prodotti farmaceutici non ha portato a conclusioni definitive. Questa categoria che è esposta a una molteplicità di prodotti chimici presentava un incremento del rischio per il linfoma non Hodgkin e per tumore alla cute. Tuttavia, non erano stati identificati gli agenti chimici presumibilmente responsabili di questo aumento del rischio (9). In Danimarca è stato stimato che l'esposizione professionale ad un particolare farmaco antitumorale, il ciclofosfamide, comporta un incremento del numero di tumori fra 1 e 10 casi per milione all'anno (10). Non essendo un numero molto elevato è sicuramente un rischio che può essere evitato con opportune misure di prevenzione.

Effetti riproduttivi

Gli studi sugli effetti riproduttivi sono più numerosi e provengono da diverse realtà lavorative. I principali risultati sono riassunti nella Tabella 1. Gli studi di Hemminki e Selevan in Finlandia sono basati sull'accertamento dell'esposizione durante le prime settimane di gravidanza, che è anche il periodo di maggiore suscettibilità. Altri studi sono basati su questionari senza un riscontro obiettivo dell'effettiva esposizione. Tuttavia, nonostante queste limitazioni, esiste una forte convergenza dell'evidenza epidemiologica a favore dell'ipotesi di un incremento del rischio di aborto spontaneo tra le infermiere che lavorano senza misure protettive.

Un effetto ben documentato, e probabilmente collegato all'aborto spontaneo, è quello dei disturbi mestruali. Un ampio studio, sulla salute delle infermiere, condotto negli Stati Uniti all'inizio degli anni '90, ha evidenziato un maggiore numero di disfunzioni mestruali tra le infermiere che manipolavano farmaci chemioterapici (11).

Meno concreta è l'evidenza sul possibile ruolo di questa esposizione nelle malformazioni congenite e nelle gravidanze extrauterine. Quest'ultimo effetto è stato osservato per la prima volta in uno studio francese nel 1993, ma si basava su solo 15 casi (12). Successivamente, uno studio molto più ampio, disegnato specificatamente per esplorare l'ipotesi dell'associazione tra esposizione professionale a chemioterapici e gravidanza extrauterina, è risultato negativo (13).

Il possibile effetto teratogeno è stato sospettato sulla base di due studi (12, 14), ma ambedue erano senza un'adeguata definizione delle esposizioni a chemioterapici, basati solo sulla categoria professionale delle lavoratrici. Infatti, trattandosi di eventi rari, lo studio di malformazioni congenite ed esposizioni professionali a chemioterapici (altrettanto rare) presenta molte difficoltà.

Tabella 1. Selezionati studi epidemiologici sul rischio riproduttivo ed esposizione professionale ad antitumorali

Autore	Popolazione in studio	Metodo	Risultati
Hemminki <i>et al.</i> (12) Finlandia	Donne lavoratrici	Studio caso-controllo basato sui registri	Aumento del rischio di aborto e di malformazioni solo per le esposte >1 volta per settimana
Selevan <i>et al.</i> (14) Finlandia	Donne lavoratrici	Studio caso-controllo in 17 ospedali finlandesi	Aumentato rischio di aborto per esposizione nel primo trimestre
Mc Donald <i>et al.</i> (15) Montreal, Canada	Donne	Indagine su larga scala su occupazione ed effetti sulla gravidanza	Aumentato rischio di difetti congeniti fra lavoratrici ospedaliere
Stuecker <i>et al.</i> (16) Francia	Infermiere di 4 ospedali	Tasso di aborto tra infermiere e controlli	Aumentato rischio di aborto
Skov <i>et al.</i> (8) Danimarca	Infermiere oncologiche	Tasso di aborto e cancro tra infermiere esposte e controlli	Non è stato osservato nessun aumento del rischio
Saurel-Cubizzolles <i>et al.</i> (17) Francia	Infermiere	Conseguenze sulla gravidanza tra infermiere esposte e controlli	Aumentato rischio di gravidanze ectopiche
Shortrige <i>et al.</i> (11) Stati Uniti	Infermiere	Studio trasversale tra infermiere esposte e non esposte	Aumentato rischio di disfunzioni mestruali
Bouyer <i>et al.</i> (13) Francia	Varie professioni	Studio caso-controllo di 140 casi di gravidanze e 279 controlli	Nessun aumento di rischio di gravidanze ectopiche
Valanis <i>et al.</i> (18, 19) Stati Uniti	Farmacisti ospedalieri e staff infermieristico	Tasso di aborto, infertilità e di natimortalità tra farmacisti ospedalieri, infermiere e controlli	Aumentato rischio di aborto spontaneo e di infertilità

Le misure di prevenzione, introdotte in maniera sistematica dopo queste osservazioni, hanno sicuramente contribuito a limitare il rischio, almeno nei Paesi occidentali. Già nel 1992 uno studio condotto in Danimarca tra infermiere dei reparti oncologici, non ha riscontrato un incremento del rischio di aborto spontaneo. Gli autori hanno attribuito tale risultato al fatto che negli ospedali avevano adottato efficaci misure di prevenzione sia nella preparazione che nella somministrazione dei farmaci (8).

Il problema associato al rischio di esposizione a sostanze chemioterapiche non può, tuttavia, essere considerato superato, per diverse ragioni:

- in primo luogo il rischio probabilmente persiste in molte realtà, anche in lavorazioni esterne all'ambiente ospedaliero (es. impianti farmaceutici), e specialmente nei Paesi in via di sviluppo dove le misure di prevenzione sono scarse. Da alcuni rari dati, si evince, infatti, che laddove queste esposizioni sono ancora presenti, il rischio di patologia

- riproduttiva è rilevante, non solo per esposizioni femminili, ma anche maschili, in particolare queste osservazioni provengono da uno studio condotto in India (20);
- in secondo luogo non tutti gli effetti negativi sulla riproduzione sono stati adeguatamente studiati in gruppi femminili o maschili con basse esposizioni. In molti studi, inoltre, il problema di una bassa potenza statistica costituisce un serio impedimento per mettere in evidenza eventi rari, come i difetti congeniti. Mentre danni più lievi, come la subfecondità, non sono stati ancora sufficientemente messi in rapporto all'esposizione professionale a farmaci chemioterapici per le donne, ma anche per gli uomini (21).

Bibliografia

1. Rogers B. Work practices of nurses who handle antineoplastic agents. *AAOHN J* 1987; 35(1):24-31.
2. Sessink P, Cerna M, Rossner P. Urinary cyclophosphamide excretion and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplastic agents. *Mutat Res* 1994; 309:193-9.
3. Fuchs J, Hengstler JG, Jung D, Hiltl G, Konietzko J, Oesch F. DNA damage in nurses handling antineoplastic agents. *Mutat Res* 1995;342(1-2):17-23.
4. Sorsa M, Hemminki K, Vainio H. Occupational exposure to anticancer drug-potential and real hazard. *Mutat Res* 1985;154(2):135-49.
5. Thiringer G, Gnaung G, Holman A. Comparison of methods for the biomonitoring of nurses handling antitumor drugs. *Scand J Work Environ Health* 1991;17:133-8.
6. Undeger I, Basaran N, Kars A, Guc D. Assessment of DNA Damage in nurses handling antineoplastic drugs by the alkaline COMET assay. *Mutat Res* 1999;439(2):277-85.
7. Skov T, Lyng E, Maarup B. Risks for physicians handling antineoplastic drugs. *Lancet* 1990;2:1446.
8. Skov T, Maarup B, Olsen J, Rorth M, Wintherreik H, Lyng E. Leukaemia and reproductive outcome among nurses handling antineoplastic drugs. *Br J Ind Med* 1992;49(12):855-61.
9. Hansen J, Olsen J. Cancer morbidity among Danish female pharmacy technicians. *Scand J Work Environ Health* 1994;20:22-6.
10. Sessink P, Kroese E, van Kraner H, Bos R. Cancer risk assessment health care workers occupationally exposed to cyclophosphamide. *Int Arch Occup Environ Health* 1995;67:317-23.
11. Shortridge LA, Lamaster GK, Valanis B, Hertzberg V. Menstrual cycles in nurses handling antineoplastic drugs. *Cancer Nurs* 1995;18(6):439-44.
12. Hemminki K, Franssila E, Vainio H. Spontaneous abortions among female chemical workers in Finland. *Int J Occup Environ Health* 1980;45:123-6.
13. Bouyer J, Saurel-Cubizolles M, Grenier C, Aussel L, Job-Spira N. Ectopic pregnancy and occupational exposure of hospital personnel. *Scand J Work Environ Health* 1998;24(2):98-103.
14. Selevan SG, Hornung RW. Antineoplastic drugs and spontaneous abortion in nurses. *N Engl J Med* 1985;314:1050.
15. McDonald AD, McDonald JC, Cherry NM, Cote R, Lavoie J, Nolin AD, Robert D. Congenital defects and work in pregnancy. *Br J Ind Med* 1988;45(9):581-8.
16. Stuecker I, Caillard JF. Risk of spontaneous abortion among nurses handling antineoplastic drugs. *Scand. J Work Environ Health* 1990;16(2):102-7.

17. Sauriel-Cubizolles MJ, Job-Spira N, Estryn-Behar M. Ectopic pregnancy and occupational exposure to antineoplastic drugs. *Lancet* 1993;341:1169-71.
18. Valanis BG, Vollmer WM, Steele P. Occupational exposure to antineoplastic agents. Self reported miscarriages and still-births among nurses and pharmacist. *J Occup Environ Med* 1999;41:632-8.
19. Valanis BG, Vollmer WM, Labuhn KT, Glass AG. Occupational exposure to antineoplastic agents and self-reported infertility among nurses and pharmacists. *J Occup Environ Med* 1997;39(6):574-80.
20. Prasad M, Pushparathi K, Sandhya Devi G, Reddy P. Reproductive epidemiology of sulfonamide. Factory workers. *J Toxicol Environ Health* 1996;47:109-14.
21. Zielhuis G, Peeten SJM, Florack EIM, Roeleveld N. Hospital work and fecundability. *Scand J Work Environ Health* 1999;25(suppl 1):47-8.

EFFETTI DI FARMACI ANTITUMORALI SULLA RIPRODUZIONE FEMMINILE E LO SVILUPPO PRENATALE: DATI SPERIMENTALI

Alberto Mantovani, Anna Velia Stazi

Laboratorio di Tossicologia Comparata ed Ecotossicologia, Istituto superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Gli antiblastici disturbano eventi alla base della replicazione cellulare e della fisiologia cellulare, comprendono agenti alchilanti come la ciclofosfamide, inibitori del metabolismo dei folati come il metotressato, sostanze che alterano il citoscheletro come gli alcaloidi vincristina e vinblastina, ecc. Pertanto, è evidente come gli antiblastici possono avere una forte tossicità per i tessuti in rapida proliferazione e differenziazione come quelli embrionali; infatti, l'uso terapeutico in gravidanza è associato al rischio di abortività e malformazioni congenite, e specifiche sindromi malformative sono state osservate in neonati da madri trattate con metotressato (1) e ciclofosfamide (2). In teratogenesi sperimentale, alcuni antiblastici sono stati utilizzati come sostanze di riferimento per la messa a punto di modelli sperimentali *in vivo* (3) od *in vitro* (4); inoltre sostanze come ciclofosfamide, cisplatino, mitomicina sono state utilizzate per dimostrare la suscettibilità in vivo dell'embrione anche nella fase di pre-impianto ad effetti citotossici e clastogeni (5, 6).

Gli studi sperimentali disponibili confermano gli effetti embriotossici degli antiblastici in seguito a somministrazione farmacologica, dando indicazioni di notevole utilità anche per la valutazione del rischio riproduttivo e la sorveglianza sanitaria delle esposizioni lavorative che hanno caratteri specifici: pur essendo meno continuative e a livelli di dose molto inferiori, sono esposizioni croniche e che interessano più sostanze. Questa breve rassegna su alcuni composti modello vuole focalizzarsi su:

- studi *in vitro* e *in vivo* per la determinazione di effetti sull'apparato riproduttivo femminile, talora trascurati rispetto all'evidente tossicità per il prodotto del concepimento;
- studi sui meccanismi di azione degli effetti embriotossici, potenzialmente utilizzabili per caratterizzare biomarcatori di effetto e di suscettibilità;
- infine, studi *in vitro* e *in vivo*, tuttora molto limitati, sui possibili danni ritardati sullo sviluppo di organi e tessuti.

La rilevanza di questo aspetto viene indicata da alcuni dati sperimentali: infatti, è stato osservato un accumulo, inizialmente poco appariscente ma prolungato, di danni cellulari in seguito ad esposizioni a breve termine ad antiblastici quali il metotressato (7).

Un alchilante: ciclofosfamide (CF)

Tossicità riproduttiva femminile

La tossicità riproduttiva della CF richiede un'attivazione metabolica: dei due metaboliti reattivi principali, *fosforamide mostarda* (FM) e *acroleina* il primo è il responsabile principale della tossicità per il follicolo ovarico, con una potenza più che doppia rispetto alla CF su base equimolare (8). Per contro composti che vengono metabolizzati esclusivamente ad acroleina, come la didecloro-CF, sono privi di tossicità ovarica (8).

La CF ha una evidente tossicità sia sul tessuto uterino di topine trattate *in vivo* che sull'ovario di roditori femmine. Nel primo caso, i meccanismi sono tanto diretti, con una persistente riduzione della risposta agli estrogeni, quanto indiretti, mediati da una riduzione dell'estradiolo plasmatico indotta da tossicità ovarica (9). Inoltre, sempre nel topo, si osserva una ridotta espressione del *Colony-stimulating-factor-1*, suggerendo un possibile ruolo di alterazioni immuni negli effetti riproduttivi della CF, inclusa la embriotossicità (10).

Per quanto riguarda la tossicità ovarica nei roditori femmine, i follicoli primordiali sono i bersagli più suscettibili della CF, per quanto la loro distruzione abbia conseguenze sia sulla struttura generale che sulla funzione endocrina dell'ovario (11-13); nel ratto femmina la somministrazione di progesterone può proteggere dagli effetti della CF (14). Le alterazioni endocrine possono essere dovute ad una azione diretta, come mostra l'inibita produzione di progesterone da parte di cellule di granulosa di ratto *in vitro* (15) e la mancanza di alterazioni degli ormoni ipofisari (14); tuttavia nel ratto è stata osservata in uno studio recente una specifica diminuzione dei livelli plasmatici di LH associata a tossicità ovarica, che suggerisce il possibile concorso di un effetto indiretto (16). Uno studio recente nel topo ha mostrato che gli effetti riproduttivi dell'esposizione a CF variano a seconda dello stadio di maturazione follicolare: l'esposizione di follicoli maturi era associata soprattutto ad un incremento di perdite pre-impianto e di riassorbimenti embrionali precoci e ad una grave diminuzione del numero dei nati vivi. Per contro l'esposizione degli oociti nelle fasi precoci della crescita follicolare era associata soprattutto ad un generale aumento di malformazioni (17). Gli effetti alchilanti e clastogeni della CF sono evidenti anche nelle blastocisti di topine esposte *in vivo*, con una marcata inibizione della sintesi proteica e della differenziazione: questi effetti precoci, con tutta probabilità, si traducono essenzialmente in un aumento della letalità embrionale pre- e post-impianto (18).

Questo susseguirsi di effetti nel corso del ciclo riproduttivo indica il diretto coinvolgimento di questo alchilante in alterazioni riproduttive, strutturali e funzionali.

Meccanismi di embriotossicità e teratogenesi

Nei roditori, oltre ad embriofetali e ritardi di sviluppo, la CF induce malformazioni della coda, degli arti, e a livelli di dose maggiori, del cranio. Studi *in vitro* e *in vivo* mostrano che, come per gli effetti sull'ovario, la embriotossicità della CF necessita di un'attivazione metabolica da parte delle monossigenasi del citocromo P-450: la CF viene trasformata in 4-idrossi-CF che viene rapidamente degradata ad acroleina e FM (19). La frazione citocromica P450 2B1 è responsabile della prima, essenziale fase del metabolismo della CF, la trasformazione in 4-idrossi-CF (20). I due metaboliti hanno tuttavia un ruolo diverso: l'acroleina si lega alle proteine citoplasmatiche, in misura maggiore negli annessi extraembrionali rispetto all'embrione. Per contro la FM si lega prevalentemente al DNA e appare responsabile dell'alchilazione del DNA nella fase dell'organogenesi e associata alle

principali malformazioni indotte dalla CF nei roditori (21). Il ruolo determinante della FM è stato confermato anche da studi sulle perturbazioni del ciclo cellulare: mentre l'acroleina non induce alterazioni significative, l'alchilazione del DNA indotta dalla FM specificamente nella fase S induce un prolungamento della fase G₂/M associato a sua volta ad un incremento della morte cellulare (22).

La induzione di eccessivi livelli di apoptosi (tipo di morte cellulare con frammentazione: a livelli normali è un processo fisiologico di rigenerazione tissutale) è un evento chiave per gli effetti teratogeni della CF. Nel topo il livello di apoptosi indotto *in vivo* dalla CF è strettamente correlato alla gravità ed estensione delle anomalie degli arti e della coda, e in misura minore, alla embriofetalia e al ritardo di crescita fetale (23). Esperimenti sull'embrione di ratto *in vitro* hanno confermato il ruolo della FM nell'indurre frammentazione del DNA, accompagnata da una aumentata espressione della clusterina, una glicoproteina coinvolta nel mantenimento dell'omeostasi cellulare: l'effetto era particolarmente evidente nel mesenchima embrionale ed extraembrionale, mentre non era osservabile nel sacco vitellino (24). Il rilascio di citocromo C dai mitocondri embrionali, con successiva attivazione delle caspasi è stato suggerito quale evento precoce dell'apoptosi indotta da CF (25). Tuttavia una apoptosi regolata dal gene oncosoppressore p53 può avere un ruolo protettivo, almeno riguardo alle malformazioni degli arti, favorendo la rimozione delle cellule con DNA danneggiato; per contro la inattivazione del p53 risulta in una riduzione del riparo del DNA e in un accumulo del danno genetico, con assenza di apoptosi e un importante incremento della necrosi (26). Ulteriori dati indicano aspetti organo-specifici riguardo sia all'espressione di p53 che alla morte cellulare in embrioni di topo esposti *in vivo* durante l'organogenesi (12° Giorno di Gravidanza, GG) ed esaminati dopo 48 ore: a) nel fegato l'eccesso di apoptosi è reversibile e accompagnato da una aumentata espressione di p53; b) nelle strutture cefaliche, si osserva un aumento di p53 associato ad una persistente apoptosi e ad anomalie morfologiche; c) negli abbozzi di arto, si osserva un'imponente riduzione delle cellule vitali e non si ha alcun aumento di p53 (27). Una suscettibilità tessuto-specifica è stata osservata anche in embrioni ad uno stato di precedente di sviluppo (GG 9), in cui non si è avuta alcuna induzione di apoptosi nelle strutture cardiache (25).

Un dato di un certo interesse è il notevole effetto protettivo di trattamenti che stimolano il sistema immunitario materno, nei confronti dei livelli di apoptosi e della induzione di embriofetalia, ritardo di crescita e malformazioni (28). In particolare l'effetto protettivo della immunostimolazione potrebbe essere attribuito all'incremento, nell'interfaccia utero-placentale, di specifiche citochine (29), tra cui appare importante il *Transforming Growth Factor* beta2 (30); per contro un'aumentata espressione di *Tumor Necrosis Factor*-alfa è correlata ad un aumento dell'embriofetalia (31).

Effetti ritardati sullo sviluppo

I dati che indicano un possibile effetto ritardato sullo sviluppo sono sporadici anche per una sostanza ben indagata come modello sperimentale, quale la CF.

Come è stato già citato, l'oocita dell'adulto in una fase precoce è suscettibile ad effetti ritardati, con un incremento di malformazioni nella prole (16). Un'esposizione *in vivo* estremamente precoce dei gameti femminili è quella dei gonociti in proliferazione nel periodo fetale. Su tali cellule, in profase meiotica, la CF induce frammentazione dei nucleoli e aumento dei complessi sinaptinomiali, indice di ricombinazione genetica (32). Pertanto, in determinate condizioni si possono ipotizzare effetti transgenerazionali della CF, in cui l'esposizione materna determina un danno alle gonadi fetali che si potrebbe riflettere sulla prole della

generazione esposta *in utero*. Questi dati suggeriscono l'importanza di ulteriori studi a più generazioni per la caratterizzazione di rischi riproduttivi specifici.

Un antimetabolita: 5-fluorouracile (5-FU)

Tossicità riproduttiva femminile

Il 5-FU è caratterizzato da una breve emivita biologica e da una citotossicità soprattutto nella fase S del ciclo cellulare. Mentre gli effetti embriotossici sono stati studiati accuratamente, esiste un unico studio *in vivo* piuttosto recente sugli effetti sulla fertilità femminile nei roditori (topo) (33). I risultati indicano che la fase immediatamente post-ovulatoria (estro) è la più suscettibile per la riduzione della fertilità; inoltre sia tale fase che quella immediatamente successiva (metaestro) sono le più suscettibili per la riduzione del peso dei nati vivi. La fase relativamente meno suscettibile è quella immediatamente pre-ovulatoria (proestro). È infine interessante notare come l'esposizione al 5-FU durante l'estro aumenti anche la tossicità generale, indicando come il ciclo ovarico sia anche correlato a variazioni nella suscettibilità agli xenobiotici di organi e tessuti esterni all'apparato riproduttivo.

Meccanismi di embriotossicità e teratogenesi

La embriotossicità della 5-FU è stata ripetutamente utilizzata in un modello di caratterizzazione degli effetti in rapporto alla dosimetria basata sulla esposizione di embrioni di ratto ad una singola dose sotto cutanea (s.c.) nella tarda organogenesi (GG 14). Gli effetti critici comprendono la riduzione del peso fetale (≥ 20 mg/kg), la riduzione del grado di ossificazione scheletrica (≥ 25 mg/kg) e malformazioni quali palatoschisi e difetti degli arti posteriori (≥ 35 mg/kg). Il meccanismo di azione è la rapida inibizione correlata alla dose della timidilato sintetasi, con riduzione della sintesi del DNA e quindi della proliferazione cellulare (3, 34). Un'ulteriore elaborazione delle relazioni dose-risposta mostra la grande vulnerabilità del metabolismo nucleotidico embrionale agli effetti del 5FU, e, in particolare, indica la difficoltà di definire una soglia "senza effetto" per l'evento più sensibile, cioè la riduzione del peso fetale (35, 36).

Come già accennato, l'azione del 5-FU sul ciclo cellulare è piuttosto specifica: la sostanza induce un arresto in fase S, con un apparente accumulo di cellule in tale stadio seguito da una deplezione e da un ritardo nel ciclo cellulare con aumento della necrosi (37). L'effetto mostra differenze tessuto-specifiche, ad esempio una maggiore suscettibilità degli arti posteriori rispetto al fegato e una particolare vulnerabilità degli eritroblasti nella prima organogenesi (GG 11), possibilmente associate alla minore o maggiore proliferazione cellulare nel tessuto in quel dato momento della differenziazione (3, 34, 38). Infine, la disponibilità o meno di glutazione materno è stata identificata come un ulteriore fattore che influenza la embriotossicità del 5-FU (39).

Effetti ritardati sullo sviluppo

Un potenziale, significativo effetto ritardato è il disturbo della eritropoiesi *in utero*; tale effetto deriva dall'inibita eritropoiesi nel fegato fetale, con anemia ipocromica megalocitica e reticulocitosi, che alle alte dosi può essere persistente. La anemia si osserva agli stessi livelli di dose della riduzione della crescita fetale e può, pertanto, essere considerato un effetto critico

(40, 41). Questi dati, per quanto incompleti, indicano la necessità di studi a lungo termine su alterazioni persistenti, anche se meno appariscenti, della eritropoiesi nonché della maturazione di altri organi.

Un antibiotico: mitomicina C (MC)

Tossicità riproduttiva femminile

Mancano dati.

Meccanismi di embriotossicità e teratogenesi

La embriotossicità della MC nei roditori è caratterizzata, in maniera non dissimile da altri antiblastici come la CF, da anomalie degli arti, coda e scheletro assiale (42).

L'esposizione *in vivo* dell'embrione di topo nella fase pre-impianto ha mostrato un duplice effetto: un aumento della letalità precoce per diretta citotossicità sulla blastocisti, mentre nei feti che giungono a termine si ha un aumento di difetti congeniti. Tali malformazioni riguardano essenzialmente difetti della parete addominale e costole sovranumerarie e sono associate con un insufficiente sviluppo ed emorragie sia del trofoblasto che della decidua e, inoltre, con anemia materna nel GG 612. Pertanto, il probabile meccanismo teratogeno è basato sull'ipossia e l'insufficiente apporto di nutrienti nelle prime fasi embrionali (43). Infatti, studi su embrioni di ratto *in vitro* hanno confermato che la embriotossicità della MC è potenziata dall'ipossia (44). Inoltre, la MC induce effetti clastogeni e scambi di cromatidi fratelli soprattutto nelle prime fasi della organogenesi, mentre le fasi successive sono meno vulnerabili (45).

La particolare suscettibilità dei tessuti embrionali alla MC è suggerita anche da dati di farmacocinetica nel ratto, che indicano un limitato passaggio transplacentale (46). È inoltre interessante notare come la gravidanza, analogamente al 5-FU (33), incrementi la suscettibilità ad effetti sistemici; nel caso della MC ciò è dovuto ad alterazioni farmacocinetiche, con aumento dei livelli plasmatici ed emivita più prolungata (46). Questo suggerisce una maggiore attenzione nei riguardi dei mutamenti endocrino-metabolici caratteristici della gravidanza, quali ulteriori fattori di suscettibilità endogeni nei confronti di sostanze tossiche.

Infine alcuni studi effettuati negli anni '80, e non più ripresi, indicano come la embriotossicità della MC nei roditori (caratterizzata, in maniera non dissimile da altri antiblastici come la CF, da anomalie degli arti, coda e scheletro assiale) possa essere potenziata da xenobiotici ambientali come il metilmercurio (42) o sostanze presenti negli alimenti come la caffeina (47).

Effetti ritardati sullo sviluppo

Mancano dati.

Alcaloidi: vinblastina (VB) e vincristina (VC)

Tossicità riproduttiva femminile

I due alcaloidi presentano azioni molto simili, inibendo la funzione dei microtubuli; tale azione può avere importanti effetti specifici come evidenziato da studi *in vitro* su tessuti dell'apparato riproduttivo femminile di roditori. A livello di tessuto uterino, si osservano alterazioni funzionali associate ad un alterato movimento intracellulare di specifici fattori: in particolare vengono inibite sia la interazione fra le prostaglandine e la formazione di AMP ciclico (48) che la interazione dell'estradiolo con il recettore nucleare (49). Anche l'interazione con il progesterone ha un ruolo importante, potenziando l'accumulo endocellulare e la tossicità della VB (50).

Analoghi effetti sono stati osservati anche in cellule ovariche di ratto. La VB riduce la sintesi di progesterone e prostaglandina E nella granulosa (51) e quella di progesterone, in assenza di alterazioni della sintesi proteica, nelle cellule di corpo luteo (52): inoltre, in queste ultime cellule, l'utilizzo delle lipoproteine per la steroidogenesi dipende dall'integrità del sistema microtubulare e viene, pertanto, inibito dalla VB (53). Pertanto questi alcaloidi possono avere un effetto indiretto sull'equilibrio endocrino.

Meccanismi di embriotossicità e teratogenesi

Le alterazioni causate dalla VC durante l'organogenesi comprendono, oltre ad embriofetale e ritardo di sviluppo, difetti del tubo neurale e malformazioni oculari; gli effetti sono più evidenti *in vivo* che *in vitro*, suggerendo il concorso della formazione di metaboliti reattivi e/o di un danno placentare (54); infatti, la VB inibisce la pinocitosi nel sacco vitellino di ratto (55). Gli effetti dei due alcaloidi sul sistema microtubulare, osservati in neuroblasti *in vitro*, sono piuttosto specifici; viene colpito il complesso microtubulare coinvolto nella mitosi, mentre microtubuli citoscheletrici rimangono intatti (56). Questi dati potrebbero suggerire la induzione di effetti sullo sviluppo organo-specifici, dipendenti dall'indice mitotico e dal ruolo del sistema microtubulare nella istogenesi in un dato tessuto in una determinata fase dello sviluppo.

Effetti ritardati sullo sviluppo

Alcuni studi *in vitro* hanno indagato il potenziale di questi alcaloidi di disturbare la differenziazione di specifici tessuti. La sintesi proteica e la secrezione di albumina nel fegato fetale e la formazione delle cellule beta nel pancreas endocrino non appaiono particolarmente suscettibili a confronto dei rispettivi tessuti dell'adulto (57, 58). Per contro, sono state osservate significative alterazioni indotte dalla VB nella formazione dei follicoli nella tiroide fetale (59). Quindi non può essere escluso che sostanze che alterano il citoscheletro, come VB e VC, siano capaci di indurre alterazioni funzionali evidenti dopo la nascita.

Un composto metallico: cisplatino (CP)

Tossicità riproduttiva femminile

Il trattamento di ratte adulte con dosi singole e ripetute di CP – 8 mg/kg p.c.(peso corporeo) per via endovenosa – causa una significativa e persistente presenza di addotti di platino al DNA nelle ovaie (60). Non vi sono dati adeguati sugli effetti sulla fertilità femminile: tuttavia, uno studio *in vivo* sul ratto ha suggerito un'associazione fra embriofetale precoce e alterazioni ormonali indotte dal CP, in particolare l'inibizione del metabolismo del progesterone nonché la riduzione dei livelli plasmatici di LH, prolattina e progesterone (61).

Meccanismi di embriotossicità e teratogenesi

Al contrario di molti altri antitumorali, il CP non induce effetti teratogeni. Tuttavia, il trattamento intraperitoneale di ratti e topi femmine in singoli giorni della gravidanza induce una marcata embriofetale, con ritardi di sviluppo e di ossificazione scheletrica (62,63). Si osserva una maggiore suscettibilità della prima organogenesi (GG 11, fase di massima replicazione cellulare) rispetto al periodo peri-impianto (GG 6) e una scomparsa dell'effetto nella tarda organogenesi (GG 14): la LD50 embrionale era di 1,0 mg/kg p.c. nei ratti femmine esposti al GG 11 (62). Analogamente alla CF (26), una inibita espressione del p53 o di altri enzimi di riparo potenzia gli effetti cellulari del CP (64).

Tuttavia, va notato come il passaggio transplacentale di cisplatino nel topo sia limitato nella prima organogenesi e aumenti significativamente nella fase fetale (GG 17) (65): pur considerando la elevata suscettibilità dei tessuti in rapida proliferazione ad esposizioni anche modeste di agenti fortemente citotossici (35, 36, 46) questo dato potrebbe dare un ulteriore contributo a chiarire il ruolo di alterazioni ormonali nella embriofetale del CP (61).

Effetti ritardati sullo sviluppo

Il CP mostra un significativo passaggio transplacentale nel ratto durante la fase fetale, e si concentra soprattutto nel rene, polmone e cuore; nei tessuti fetali la sostanza forma addotti al DNA associati ad un effetto cancerogeno transplacentare. Gli organi più sensibili a tale effetto sono, in ordine crescente, il polmone, sistema nervoso centrale, rene e fegato (65,66).

Conclusioni

La rassegna degli studi sperimentali *in vitro* e *in vivo* qui presentata fornisce indicazioni plausibili sugli effettivi rischi per le donne lavoratrici. I risultati, tuttavia, dovrebbero essere interpretati con le dovute cautele, date le difficoltà di estrapolazione all'essere umano. Da un lato, quindi, le informazioni tossicologiche sugli antitumorali vanno considerate con grande attenzione, tuttavia non devono suscitare immotivati allarmismi. Pertanto, tali risultati forniscono, soprattutto, indicazioni per ulteriori ricerche mirate.

Gli studi sperimentali, oltre a confermare il rischio di embriofetale, ritardo di sviluppo fetale e malformazioni congenite in seguito ad esposizione materna ad antitumorali forniscono importanti indicazioni *qualitative* che, opportunamente integrate, potrebbero essere importanti per la valutazione del rischio. In particolare:

- a) Gli antiblastici possono colpire la fertilità femminile; oltre ai classici effetti citotossici attesi per questo tipo di composti si osservano, ad esempio per la CF e gli alcaloidi VB e VC, alterazioni a livello cellulare e/o molecolare della recettività del tessuto a stimolazioni immunitarie o endocrine (8, 9), nonché della produzione o del trasporto di ormoni (14,51-53). Pertanto, ove confermato da studi più completi, alcuni antiblastici potrebbero essere inclusi fra gli xenobiotici che alterano l'equilibrio endocrino (*Endocrine Disrupting Chemicals*), sia pure attraverso meccanismi indiretti.
- b) I dati disponibili sulla embriotossicità portano ad identificare, per alcune sostanze (5-FU, CP) la embriofetale e/o il ritardo di sviluppo fetale come effetti critici, cioè osservabili a livelli di dose minori rispetto a quelli che inducono effetti teratogeni (34-36, 62, 63); per altre sostanze appaiono particolarmente importanti le malformazioni degli arti e della coda (CF, MC) (20, 23, 52) o del cranio (VC, VB) (54). È stata osservata una certa specificità tessutale di effetti teratogeni, ad esempio per CF e 5-FU (25, 27, 34, 38); considerando i meccanismi di azione degli antiblastici tale specificità è probabilmente correlata al grado di differenziazione e/o proliferazione del tessuto in una data fase dell'organogenesi. Ciò implica che l'organismo embrionale è suscettibile anche ad esposizioni di breve durata, sia pure con effetti diversi a seconda della fase dell'organogenesi in cui avviene tale esposizione.
- c) I meccanismi di azione degli effetti embriotossici suggeriscono possibili fattori di suscettibilità individuale: esempi sono per la CF, la produzione di metaboliti reattivi (18, 22) l'omeostasi immunitaria (9, 29-31), per CF e CP i meccanismi di riparo del DNA (26, 27, 64), per il 5-FU le riserve materne di glutatione (39). Questo evidenzia la necessità di porre attenzione all'esposizione di soggetti di per sé maggiormente suscettibili a causa di condizioni metaboliche, endocrine e/o immunitarie già alterate (es. diabete di tipo 1, tiroiditi, malattia celiaca, disturbi del metabolismo dei folati) (67). Un potenziamento dell'embriotossicità da parte di sostanze presenti nell'ambiente e/o negli alimenti è stato riportato per la MC in studi effettuati negli anni '80 (46, 47): si tratta di un altro aspetto importante che merita di essere ulteriormente considerato con nuovi studi.
- d) A parte che per la MC, su cui mancano dati, per tutti i composti considerati esistono dati che suggeriscono la possibilità di effetti sullo sviluppo la cui manifestazione, postnatale, può essere notevolmente distanziata rispetto al periodo in cui è avvenuta l'esposizione materna o addirittura, nel caso della CF, un effetto transgenerazionale (32). Per quanto i dati siano assolutamente insufficienti, essi indicano la necessità di indagare più a fondo, ad esempio, il rischio di cancerogenesi transplacentare per il CP (66) o effetti sulla maturazione funzionale di organi o apparati come il sistema emopoietico per il 5-FU (40, 41) e la tiroide per VB e VC (59).

Da questa breve rassegna emerge che, nonostante le interessanti indicazioni fornite dai lavori scientifici, i dati disponibili sono assolutamente inadeguati per contribuire ad una valutazione quantitativa del rischio riproduttivo in seguito ad esposizione occupazionale. Le sostanze sono state considerate in molti casi come modelli per la messa a punto di sistemi sperimentali o per l'osservazione di eventi a livello tessutale, cellulare o subcellulare. Anche ove si è effettuata una osservazione più sistematica (es. 34-36, 62, 63), l'obiettivo degli studi è stato la tossicità in seguito a trattamento antitumorale, utilizzando alte dosi e vie di somministrazione parenterali.

Ulteriori studi sperimentali che possano fornire informazioni per la valutazione del rischio occupazionale dovrebbero essere primariamente mirati a:

- utilizzare vie di esposizione realistiche (cutanea, inalatoria), oppure mettere a punto modelli di esposizione farmacocinetici per estrapolare i dati sperimentali a tali vie di esposizione in maniera ragionevolmente cautelativa;
- definire e valutare accuratamente le relazioni dose-risposta per gli effetti osservati *in vivo*, in modo da identificare gli effetti critici e i livelli di dose associati ad una risposta minima (68); questo permetterebbe quindi la elaborazione di soglie di esposizione lavorativa in accordo con i modelli correntemente utilizzati nella valutazione del rischio tossicologico;
- considerare il rischio di esposizioni a lungo termine mediante studi a 1 o 2 generazioni, per valutare gli effetti cronici sulla riproduzione e lo sviluppo;
- infine, valutare con opportuni modelli sperimentali (69) il rischio di esposizioni prolungate a più composti.

Pertanto, pur con le necessari cautele nell'interpretazione dei risultati, lo sviluppo degli studi sperimentali sulle sostanze antiproliferative potrà fornire sia una base scientifica per la tutela delle donne esposte nell'ambiente di lavoro che uno strumento per la valutazione dei rischi in collaborazione con gli studi epidemiologici.

Ringraziamenti

Studio finanziato dal Progetto di Ricerca Art. 12 Decreto Legislativo 502/92 Istituto Superiore di Sanità: Esposizione umana a xenobiotici con probabile attività endocrina: valutazione del rischio per la riproduzione e per l'età evolutiva.

Bibliografia

1. Juchau MR. Chemical teratogenesis. *Prog Drug Res* 1993;41:9-50.
2. Enns GM, Roeder E, Chan RT, Ali-Khan Catts Z, Cox VA, Golabi M. Apparent cyclophosphamide (cytoxan) embryopathy: a distinct phenotype? *Am J Med Genet* 1999;86:237-41.
3. Shuey DL, Lau C, Logsdon TR, Zucker RM, Elstein KH, Narotsky MG, Setzer RW, Kavlock RJ, Rogers JM. Biologically based dose-response modeling in developmental toxicology: biochemical and cellular sequelae of 5-fluorouracil exposure in the developing rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;126:129-44.
4. Piersma AH, Attenon P, Bechter R, Govers MJ, Krafft N, Schmid BP, Stadler J, Verhoef A, Verseil C. Interlaboratory evaluation of embryotoxicity in the postimplantation rat embryo culture. *Reprod Toxicol* 1995;9:275-80.
5. Ornaghi F, Giavini E. Induction of micronuclei in pre-implantation rat embryos *in vivo*. *Mutat Res* 1989;225:71-4.
6. Giavini E, Lemonica IP, Lou Y, Broccia ML, Prati M. Induction of micronuclei and toxic effects in embryos of pregnant rats treated before implantation with anticancer drugs: cyclophosphamide, cis-platinum, adriamycin. *Teratog Carcinog Mutagen* 1990;10:417-26.
7. Chow M, Rubin H. Ubiquitous, heritable damage in cell populations that survive treatment with methotrexate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 8773-8.
8. Plowchalk DR, Mattison DR. Phosphoramidate mustard is responsible for the ovarian toxicity of cyclophosphamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991;107:472-81.
9. Plowchalk DR, Meadows MJ, Mattison DR. Reproductive toxicity of cyclophosphamide in the C57BL/6N mouse: 2. Effects on uterine structure and function. *Reprod Toxicol* 1992;6:423-9.

10. Gorivodsky M, Torchinsky A, Shepshelovich J, Savion S, Fein A, Carp H, Toder V. Colony-stimulating factor-1 (CSF-1) expression in the uteroplacental unit of mice with spontaneous and induced pregnancy loss. *Clin Exp Immunol* 1999;117:540-9.
11. Plowchalk DR, Mattison DR. Reproductive toxicity of cyclophosphamide in the C57BL/6N mouse: 1. Effects on ovarian structure and function. *Reprod Toxicol* 1992;6:411-1.
12. Montz FJ, Wolff AJ, Gambone JC. Gonadal protection and fecundity rates in cyclophosphamide-treated rats. *Cancer Res* 1991;51: 2124-6.
13. Meiorow D, Lewis H, Nugent D, Epstein M. Subclinical depletion of primordial follicular reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Hum Reprod* 1999;14:1903-7.
14. Jarrell JF, Bodo L, YoungLai EV, Barr RD, O'Connell GJ. The short-term reproductive toxicity of cyclophosphamide in the female rat. *Reprod Toxicol* 1991;5:481-5.
15. Ataya KM, Pydyn EF, Ramahi-Ataya AJ. The effect of "activated" cyclophosphamide on human and rat ovarian granulosa cells *in vitro*. *Reprod Toxicol* 1990;4:121-5.
16. Ghosh S, Misro M, Das UB, Maiti R, Debnath JM, Ghosh D. Effect of human chorionic gonadotrophin coadministration on ovarian steroidogenic and folliculogenic activities in cyclophosphamide treated albino rats. *Reprod Toxicol* 2001;15:221-5.
17. Meiorow D, Epstein M, Lewis H, Nugent D, Gosden RG. Administration of cyclophosphamide at different stages of follicular maturation in mice: effects on reproductive performance and fetal malformations. *Hum Reprod* 2001;16:632-7.
18. Kola I, Folb PI, Parker MI. Maternal administration of cyclophosphamide induces chromosomal aberrations and inhibits cell number, histone synthesis, and DNA synthesis in preimplantation mouse embryos. *Teratog Carcinog Mutagen* 1986;6:115-27.
19. Mirkes PE. Cyclophosphamide teratogenesis: a review. *Teratog Carcinog Mutagen* 1985;5:75-88.
20. Little SA, Mirkes PE. Relationship of DNA damage and embryotoxicity induced by 4-hydroperoxydechlorocyclophosphamide in postimplantation rat embryos. *Teratology* 1990;41:223-31.
21. Wei MX, Tamiya T, Rhee RJ, Breakefield XO, Chiocca EA. Diffusible cytotoxic metabolites contribute to the *in vitro* bystander effect associated with the cyclophosphamide/cytochrome P450 2B1 cancer gene therapy paradigm *Clin Cancer Res* 1995 ;1:1171-7.
22. Little SA, Mirkes PE. Effects of 4-hydroperoxycyclophosphamide (4-OOH-CP) and 4-hydroperoxydechlorocyclophosphamide (4-OOH-deCICP) on the cell cycle of post implantation rat embryos. *Teratology* 1992; 45:163-73.
23. Torchinsky A, Savion S, Gorivodsky M, Shepshelovich J, Zaslavsky Z, Fein A, Toder V. Cyclophosphamide-induced teratogenesis in ICR mice: the role of apoptosis. *Teratog Carcinog Mutagen* 1995;15:179-90.
24. Chen B, Cyr DG, Hales BF. Role of apoptosis in mediating phosphoramidate mustard-induced rat embryo malformations *in vitro*. *Teratology* 1994 ;50:1-12.
25. Mirkes PE, Little SA. Cytochrome c release from mitochondria of early postimplantation murine embryos exposed to 4-hydroperoxycyclophosphamide, heat shock, and staurosporine. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;162:197-206.
26. Moallem SA, Hales BF. The role of p53 and cell death by apoptosis and necrosis in 4-hydroperoxycyclophosphamide-induced limb malformations. *Development* 1998; 125:3225-34.
27. Torchinsky A, Ivnitsky I, Savion S, Shepshelovich J, Gorivodsky M, Fein A, Carp H, Schwartz D, Frankel J, Rotter V, Toder V. Cellular events and the pattern of p53 protein expression following cyclophosphamide-initiated cell death in various organs of developing embryo. *Teratogenesis Carcinog. Mutagen.* 1999;19:353-67.

28. Toder V, Savion S, Gorivodsky M, Shepshelovich J, Zaslavsky Z, Fein A, Torchinsky A. Teratogen-induced apoptosis may be affected by immunopotential. *J Reprod Immunol* 1996;30:173-85.
29. Savion S, Brengauz-Breitmann M, Torchinsky A, Toder V. A possible role for granulocyte macrophage-colony stimulating factor in modulating teratogen-induced effects. *Teratog Carcinog Mutagen* 1999;19:171-82.
30. Ivnitisky I, Torchinsky A, Savion S, Shepshelovich J, Orenstein H, Toder V, Fein A. TGFbeta2 in embryos with inborn anomalies: effect of maternal immunopotential. *Am J Reprod Immunol* 2001;45:41-51.
31. Gorivodsky M, Zemliak I, Orenstein H, Savion S, Fein A, Torchinsky A, Toder V. TNF-alpha messenger RNA and protein expression in the uteroplacental unit of mice with pregnancy loss. *J Immunol* 1998;160:4280-8.
32. Cusido L, Pujol R, Egozcue J, Garcia M. Cyclophosphamide-induced synaptonemal complex damage during meiotic prophase of female *Rattus norvegicus*. *Mutat Res* 1995;329:131-41.
33. Hrushesky WJ, Vyzula R, Wood PA. Fertility maintenance and 5-fluorouracil timing within the mammalian fertility cycle. *Reprod Toxicol* 1999;13:413-20.
34. Shuey DL, Setzer RW, Lau C, Zucker RM, Elstein KH, Narotsky MG, Kavlock RJ, Rogers JM. Biological modeling of 5-fluorouracil developmental toxicity. *Toxicology* 1995;102:207-13
35. Lau C, Mole ML, Copeland MF, Rogers JM, Kavlock RJ, Shuey DL, Cameron AM, Ellis DH, Logsdon TR, Merriman J, Setzer RW. Toward a biologically based dose-response model for developmental toxicity of 5-fluorouracil in the rat: acquisition of experimental data. *Toxicol Sci* 2001;59:37-48.
36. Setzer RW, Lau C, Mole ML, Copeland MF, Rogers JM, Kavlock RJ. Toward a biologically based dose-response model for developmental toxicity of 5-fluorouracil in the rat: a mathematical construct. *Toxicol Sci* 2001;59:49-58.
37. Elstein KH, Zucker RM, Shuey DL, Lau C, Chernoff N, Rogers JM. Utility of the murine erythroleukemic cell (MELC) in assessing mechanisms of action of DNA-active developmental toxicants: application to 5-fluorouracil. *Teratology* 1993;48:75-87.
38. Elstein KH, Zucker RM, Andrews JE, Ebron-McCoy M, Shuey DL, Rogers JM. Effects of developmental stage and tissue type on embryo/fetal DNA distributions and 5-fluorouracil-induced cell-cycle perturbations. *Teratology* 1993;48:355-63.
39. Naya M, Matak Y, Takahira H, Deguchi T, Yasuda M. Effects of phorone and/or buthionine sulfoximine on teratogenicity of 5-fluorouracil in mice. *Teratology* 1990;41:275-80.
40. Shuey DL, Zucker RM, Elstein KH, Rogers JM. Fetal anemia following maternal exposure to 5-fluorouracil in the rat. *Teratology* 1994;49:311-9.
41. Zucker RM, Elstein KH, Shuey DL, Rogers JM. Flow cytometric detection of abnormal fetal erythropoiesis: application to 5-fluorouracil-induced anemia. *Teratology* 1995;51:37-44.
42. Inouye M, Kajiwara Y. Teratogenic interactions between methylmercury and mitomycin-C in mice. *Arch Toxicol* 1988;61:192-5.
43. Nagao T, Saitoh Y, Yoshimura S. Possible mechanism of congenital malformations induced by exposure of mouse preimplantation embryos to mitomycin C. *Teratology* 2000;61:248-61.
44. Barber CV, Fantel AG. The role of oxygenation in embryotoxic mechanisms of three bioreducible agents. *Teratology* 1993;47:209-23.
45. Muller L. Stage-related induction of chromosomal aberrations and SCE in mouse embryos treated transplacentally during organogenesis with MMC and DMBA. *Teratog Carcinog Mutagen* 1988;8:95-105.

46. Boike GM, Deppe G, Young JD, Gove NL, Bottoms SF, Malone JM Jr, Malviya VK, Sokol RJ. Chemotherapy in a pregnant rat model. 1. Mitomycin-C: pregnancy-specific kinetics and placental transfer. *Gynecol Oncol* 1989;34:187-90.
47. Nakatsuka T, Hanada S, Fujii T. Potentiating effects of methylxanthines on teratogenicity of mitomycin C in mice. *Teratology* 1983;28:243-7.
48. DoKhac L, Tanfin Z, Harbon S. Differential role of microtubules in the control of prostaglandin E2 and beta-adrenergic stimulation of cyclic AMP accumulation in the rat myometrium. *Biochem Pharmacol* 1983;32:2535-41.
49. Campbell PS, Albright CW, Wilson JH, Bridges RR. Inhibition of the nuclear localization of [3H]estradiol in rat uterine tissue *in vitro*. *J Steroid Biochem* 1989;32:681-7.
50. Yang CP, DePinho SG, Greenberger LM, Arceci RJ, Horwitz SB. Progesterone interacts with P-glycoprotein in multidrug-resistant cells and in the endometrium of gravid uterus. *J Biol Chem* 1989;264:782-8.
51. Teaff NL, Savoy-Moore RT, Subramanian MG, Ataya KM. Vinblastine reduces progesterone and prostaglandin E production by rat granulosa cells *in vitro*. *Reprod Toxicol* 1990;4:209-13.
52. Azhar S, Reaven E. Effect of antimicrotubule agents on microtubules and steroidogenesis in luteal cells. *Am J Physiol* 1982 ;243:E380-6.
53. Rajan VP, Menon KM. Involvement of microtubules in lipoprotein degradation and utilization for steroidogenesis in cultured rat luteal cells. *Endocrinology* 1985;117:2408-16.
54. Svoboda KK, O'Shea KS. Optic vesicle defects induced by vincristine sulfate: an *in vivo* and *in vitro* study in the mouse embryo. *Teratology* 1984;29:223-39.
55. Starling D, Duncan R, Lloyd JB. The role of microtubules in pinocytosis. Inhibition of fluid-phase pinocytosis in the rat visceral yolk sac by mitoclastic and related agents. *Cell Biol Int Rep* 1983;7:593-602.
56. Binet S, Chaineau E, Fellous A, Lataste H, Krikorian A, Couzinier JP, Meininger V. Immunofluorescence study of the action of navelbine, vincristine and vinblastine on mitotic and axonal microtubules. *Int J Cancer* 1990;46:262-6.
57. Kaufman SS, Tuma DJ, Sorrell MF, Vanderhoof JA. Reduced effect of microtubule inhibitors on hepatic protein secretion in the fetal rat. *Gastroenterology* 1984;86:236-42.
58. Hill RS, Rhoten WB. Differential effects of microtubule-altering agents on beta-cells during development. *Am J Physiol* 1983;245(4):E391-400.
59. Pic P, Remy L, Athouel-Haon AM, Mazzella E. Evidence for a role of the cytoskeleton in the *in vitro* folliculogenesis of the thyroid gland of the fetal rat. *Cell Tissue Res* 1984;237(3):499-508.
60. Poirier MC, Reed E, Litterst CL, Katz D, Gupta-Burt S. Persistence of platinum-amine-DNA adducts in gonads and kidneys of rats and multiple tissues from cancer patients. *Cancer Res* 1992;52:149-53.
61. Bajt ML, Aggarwal SK. An analysis of factors responsible for resorption of embryos in cisplatin-treated rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985;80:97-107.
62. Keller KA, Aggarwal SK. Embryotoxicity of cisplatin in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983;69:245-56.
63. Kopf-Maier P, Erkenwick P, Merker HJ. Lack of severe malformations versus occurrence of marked embryotoxic effects after treatment of pregnant mice with cis-platinum. *Toxicology* 1985;34:321-31.
64. Smith ML, Ford JM, Hollander MC, Bortnick RA, Amundson SA, Seo YR, Deng CX, Hanawalt PC, Fornace AJ Jr. p53-mediated DNA repair responses to UV radiation: studies of mouse cells lacking p53, p21, and/or gadd45 genes. *Mol Cell Biol* 2000; 20:3705-14.

65. Pascual MJ, Macias RI, Garcia-Del-Pozo J, Serrano MA, Marin JJ. Enhanced efficiency of the placental barrier to cisplatin through binding to glycocholic acid. *Anticancer Res* 2001;21:2703-7.
66. Giurgiovich AJ, Diwan BA, Lee KB, Anderson LM, Rice JM, Poirier MC. Cisplatin-DNA adduct formation in maternal and fetal rat tissues after transplacental cisplatin exposure. *Carcinogenesis* 1996;17:1665-9.
67. Stazi AV, Mantovani A. La malattia celiaca: fattore di rischio per la donna in età fertile. *Minerva Ginecol* 2000;52:189-96.
68. Kimmel CA, Makris SL. Recent developments in regulatory requirements for developmental toxicology. *Toxicol Lett* 2001;120:73-82.
69. Ricciardi C, Macrì C, Maranghi F, Stazi AV, Mantovani A. Effetti tossici di miscele chimiche sullo sviluppo prenatale: esempi di modelli sperimentali e problemi relativi alla valutazione del rischio. *Ann Ist Super Sanità* 1998;34:519-27.

EFFETTI DI FARMACI ANTITUMORALI SULLA SPERMATOGENESI: DATI SPERIMENTALI

Maria Elsa Traina, Elisabetta Urbani

Laboratorio di Igiene Ambientale, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Gli studi di epidemiologia non riportano finora evidenze di effetti nocivi sul sistema riproduttivo maschile, indotti dall'esposizione professionale ad antiblastici nel personale sanitario. La presenza di infermieri di sesso maschile tra questi operatori è una peculiarità dell'ambiente ospedaliero italiano e richiede pertanto una maggiore attenzione sui rischi per la funzionalità riproduttiva maschile associati a esposizioni a basse dosi di antiblastici. Il rischio di effetti sulla spermatogenesi e sulle cellule germinali è di fatto ipotizzabile dalle conoscenze sui meccanismi d'azione di queste sostanze; numerose evidenze di danni riproduttivi sono inoltre riportate negli studi preclinici su animali da laboratorio e nelle osservazioni cliniche su pazienti sottoposti a terapia antiblastica.

Tuttavia nell'interpretare queste informazioni sono da considerare i diversi fattori che caratterizzano l'esposizione professionale ad antiblastici, tra cui la diversità dell'esposizione in termine di dose e di modalità (prevalentemente per via inalatoria e cutanea), la possibilità di un'esposizione multipla a basse dosi ma prolungata nel tempo, l'eventuale insorgenza di effetti sinergici o cumulativi a livello degli organi bersaglio.

Gli effetti sulla produzione di spermatozoi, indotti dalla somministrazione di farmaci antiblastici, sono stati ben caratterizzati dalle osservazioni condotte su pazienti sottoposti a terapia antitumorale. È noto, infatti, che la maggior parte dei pazienti sviluppa azoospermia dopo 8-12 settimane circa dall'inizio della chemioterapia (1). Questo periodo tiene conto della cinetica della spermatogenesi umana, della sensibilità specifica dei vari tipi di cellule germinali presenti nell'epitelio seminifero e della dose somministrata. La distruzione degli spermatogoni indifferenziati può portare ad un arresto permanente della produzione di spermatozoi. È stato ad esempio stimato che dosi cumulative di cisplatino \geq a 600 mg/m² o di ciclofosfamide \geq a 6 g/m² provocano una azoospermia irreversibile nel 50% dei pazienti trattati (2, 3).

Diversi modelli sperimentali *in vivo* e *in vitro* sono stati utilizzati per valutare gli effetti degli antiblastici sul sistema riproduttivo maschile e i dati, in considerazione dell'elevata reattività biologica di queste molecole, sono innumerevoli. I processi che portano alla produzione di spermatozoi maturi (spermatogenesi, spermiogenesi e fasi di maturazione nell'epididimo) presentano inoltre delle caratteristiche uniche per lo studio di sostanze con attività antiblastica:

- l'attività mitotica delle cellule germinali nell'epitelio seminifero è la più alta tra i vari tessuti dell'organismo (nell'uomo circa 100 milioni di nuove cellule sono prodotte ogni giorno nel testicolo);
- il processo di formazione degli spermatozoi maturi dalle cellule indifferenziate comporta una successione di fasi distinte di replicazione cellulare (mitosi negli spermatogoni e meiosi negli spermatociti), di differenziamento (spermiogenesi) e di maturazione (nell'epididimo);
- la durata di ciascuna di queste quattro fasi è una costante specie-specifica.

Gli studi di tossicologia *in vivo* sono stati di grande utilità, in particolare per valutare il potere citotossico dei singoli antitumorali sulle cellule germinali, una valutazione che appare invece più difficile da ricavare dai dati clinici, poiché nei protocolli terapeutici sono quasi esclusivamente utilizzate miscele di farmaci. Infatti, in studi condotti alcuni anni fa sul topo (4, 5) è stata valutata l'attività citotossica di diversi farmaci antitumorali, attraverso un'analisi istologica quantitativa e la conta degli spermatozoi (numero e morfologia) nei preparati testicolari, a tempi diversi dopo la somministrazione di una singola dose per iniezione. Questo protocollo sperimentale ha consentito di individuare per ogni sostanza esaminata: 1) lo stadio cellulare del processo spermatogenico più vulnerabile all'azione dell'antitumorale; 2) definire una relazione dose-risposta; 3) effettuare un confronto tra i vari farmaci riguardo all'effetto citotossico; 4) valutare la reversibilità degli effetti a lungo termine. Questi studi hanno inoltre mostrato che l'entità e la durata del danno sulla spermatogenesi e la reversibilità degli effetti erano correlate al numero e al tipo di cellule germinali danneggiate dal trattamento (6).

Riguardo ad eventuali effetti avversi sugli esiti riproduttivi (concepimento, aborti, difetti alla nascita) associati all'esposizione paterna, gli studi sugli effetti teratogeni degli antitumorali non hanno fornito l'evidenza di un aumentato rischio di malformazioni o di danni genetici nei figli di pazienti sottoposti a terapie antitumorali (7-10). Tuttavia va considerato che il numero relativamente basso di figli concepiti da uomini trattati non consente ad oggi una valutazione conclusiva (11). Inoltre le numerose evidenze di danni trasmissibili osservati nei modelli animali inducono a non trascurare questo aspetto. Il rischio riproduttivo derivante dall'esposizione paterna è stato associato a diversi meccanismi d'azione. Gli effetti sul concepimento possono essere indotti sia da un'azione diretta del farmaco presente nel liquido seminale sugli spermatozoi prima del concepimento sia se la sostanza passa nel tratto riproduttivo femminile, da una interazione con le prime fasi embrionali. Nel ratto, la ciclofosfamida induce un aumento delle perdite embrionali pre-impianto e della mortalità perinatale e una diminuzione del peso nei nati, attraverso il liquido seminale (12, 13).

Gli effetti genetici (mutazioni, anomalie cromosomiche) ed epigenetici (alterazioni dell'espressione genica) sulle cellule germinali sono tuttavia i meccanismi più significativi d'induzione di danni riproduttivi associati all'esposizione paterna. Nei modelli animali, numerosi farmaci antitumorali sono in grado di indurre negli spermatozoi difetti genetici o mutazioni trasmissibili alla progenie. Gli agenti alchilanti sono, ad esempio, potenti mutageni per le cellule germinali e possono indurre diversi tipi di mutazioni in alcuni stadi della spermatogenesi. Nei roditori, effetti sullo sviluppo quali, aborti, morte fetale, anomalie congenite, tumori, ritardi nella crescita e alterazioni comportamentali sono stati osservati in seguito ad esposizioni paterne. La ciclofosfamida somministrata a ratti maschi, a dosi confrontabili a quelle utilizzate nelle terapie antitumorali, è in grado di indurre, dopo l'accoppiamento con femmine non trattate, un aumento di perdite pre- e post-impianto e un ritardo nella crescita dei feti, pur in assenza di alterazioni dei parametri seminali (14, 15).

L'Agenzia Europea per la Valutazione dei Farmaci (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMEA) ha recentemente elaborato nuove linee guida per gli studi preclinici per una migliore caratterizzazione degli effetti tossici a livello degli organi bersaglio e delle correlazioni dose-effetto (16). Assumono particolare significato, ai fini della valutazione del rischio di esposizione ad antitumorali, le raccomandazioni delle linee guida sulla durata degli studi. Questi dovrebbero essere condotti su almeno due specie di mammifero (di cui una non-roditore), con dosi ripetute per un periodo equivalente o superiore a quello di uno studio clinico; dovrebbero inoltre fornire informazioni sulla eventuale reversibilità a lungo termine degli effetti osservati. Queste informazioni sono ritenute importanti per effettuare una stima della dose iniziale senza effetto da utilizzare negli studi clinici e per identificare i parametri utilizzabili nel monitoraggio dei possibili effetti nocivi.

In questa rassegna si considerano solo cinque farmaci (ciclofosfamide, mitomicina C, fluorouracile, vinblastina, cisplatino), presi come modelli, perché frequentemente utilizzati nei protocolli terapeutici e/o perché importanti nel monitoraggio biologico. Per ognuno dei farmaci considerati sono stati descritti:

- gli studi a breve termine (con dosi singole) per la caratterizzazione dei principali meccanismi d'azione responsabili del danno sulla spermatogenesi,
- gli studi di tossicità sub-cronica (dosi ripetute) per la valutazione predittiva di danni difficilmente rilevabili negli studi sull'uomo.

Ciclofosfamide (CF)

La CF e i suoi metaboliti sono agenti alchilanti in grado di legarsi alle catene del DNA e di interferire attivamente con la divisione cellulare nei tessuti a rapida proliferazione (17). Il processo di spermatogenesi costituisce pertanto un bersaglio importante dell'attività antimitotica di questo composto. Nei pazienti sottoposti a terapia antitumorale con CF, dosi di 1-2 mg/kg/giorno per un periodo di 4-6 mesi, provocano una riduzione della conta spermatica (oligozoospermia o azoospermia) e un aumento dei livelli dell'ormone ipofisario follicolo-stimolante FSH (18,19).

Studi di tossicità a breve termine con dosi singole

In uno studio condotto sul topo (4) è stata valutata la suscettibilità specifica delle cellule germinali a diversi antiblastici, tra cui la CF, in seguito a somministrazioni di dosi uniche per iniezione intravenosa (i.v.). Gli effetti citotossici erano evidenziati attraverso l'analisi istopatologica dell'epitelio seminifero e la valutazione del numero e della morfologia degli spermatici nei preparati testicolari, a tempi diversi dopo la somministrazione. La potenza relativa dei diversi antiblastici era valutata principalmente dalla riduzione del numero di spermatici differenziati e/o dalla sopravvivenza delle cellule germinali primordiali (*stem cell*). La CF causava una distruzione parziale o totale degli spermatici a più rapida proliferazione (alle dosi di 67 e 200 mg/kg p.c., rispettivamente). Gli spermatici indifferenziati, gli spermatici preleptotene e gli spermatici risultavano invece più resistenti all'azione dell'agente alchilante. Questi risultati erano paragonabili a quelli ottenuti in altri studi sul topo (20, 21); in particolare l'analisi fluoro-citometrica, che permette di valutare la distribuzione percentuale dei vari tipi cellulari nel testicolo, evidenziava una riduzione degli spermatici pari al 50% con una dose di CF di 70 mg/kg p.c. Le cellule germinali primordiali non erano invece alterate dal trattamento e il processo spermatogenico era totalmente ristabilito dopo 7 settimane. Inoltre, attraverso il test di suscettibilità del DNA alla denaturazione, è stato osservato un aumento significativo della percentuale di spermatici con cromatina alterata nell'epididimo, alla dose di 150 mg/kg p.c. (21).

La vulnerabilità degli spermatici alla CF è stata confermata nel ratto. Dosi di 65 mg/kg, somministrate per i.p. in due giorni consecutivi causavano dopo 14 giorni una riduzione significativa degli spermatici leptotene, zigotene e pachitene, indicando pertanto che gli spermatici (tipo A₁, A₂, A₃, A₄) erano i tipi cellulari danneggiati al momento dell'iniezione (22). In uno studio più recente (23) la somministrazione per via orale di una dose unica (100 mg/kg p.c.) provocava un effetto citotossico sugli spermatici, dopo tre giorni dal trattamento, evidenziabile dalla riduzione degli spermatici preleptotene e zigotene, nei giorni successivi.

Studi di tossicità sub-cronica con dosi ripetute

La vulnerabilità delle cellule germinali all'azione della CF, è stata valutata nel ratto in seguito a somministrazione orale di dosi comprese tra 5 e 40 mg/kg al giorno per 2 o 4 settimane (24). Gli effetti riscontrati risultavano correlati alla dose e alla durata del trattamento. L'analisi istopatologica dei preparati testicolari mostrava infatti, negli animali trattati per 2 settimane con la dose di 10 mg/kg, una riduzione significativa degli spermatogoni di tipo A in tutti gli stadi dei tubuli seminiferi esaminati; alla dose di 20 mg/kg l'effetto citotossico si estendeva agli spermatogoni di tipo B e a diversi tipi di spermatociti. Con una somministrazione più prolungata di 4 settimane, la dose di 10 mg/kg risultava citotossica per tutti i tipi di cellule germinali e in tutti gli stadi del ciclo spermatogenico. Con 5 mg/kg gli spermatogoni di tipo A e di tipo B risultavano significativamente ridotti. Dosi più basse (fino a 5,1 mg/kg p.c. al giorno), somministrate per un periodo di 11 settimane, non provocano invece nel ratto effetti sull'asse ipofisario-gonadico (14). I pesi degli organi riproduttivi, i livelli di testosterone, FSH e LH nel siero, il numero di spermatozoi nell'epididimo e i livelli di fertilità non risultavano significativamente alterati rispetto ai controlli. Nessun effetto sul processo della spermatogenesi è stato evidenziato in uno studio successivo (25) nei preparati istologici di testicolo di ratti trattati per gavaggio con CF per 1, 3, 6 e 9 settimane con dosi di 5,1 e 6,8 mg/kg p.c. al giorno. A queste dosi, vi era invece un aumento, correlato alla durata del trattamento, del numero e delle dimensioni di cellule epiteliali, nella cauda e nella testa dell'epididimo. L'esame ultrastrutturale rilevava inoltre un aumento del numero di spermatozoi con una morfologia alterata a livello del flagello. Non sono stati invece osservati, negli studi citati, effetti sulle cellule del Leydig e del Sertoli (24, 26).

5-Fluorouracile (5-FU)

I metaboliti di questo antitumorale sono in grado di inibire la sintesi del DNA, tuttavia gli effetti citotossici *in vivo*, in particolare sulle cellule germinali, sembrano principalmente attribuibili ad una inibizione della sintesi del RNA con conseguente riduzione della sintesi di proteine specifiche.

Studi di tossicità a breve termine con dosi singole

Effetti del 5-FU sui tubuli seminiferi di topo sono stati riportati da Meistrich *et al.* (5). Alle dosi più basse (50 mg/kg p.c.) il 5-FU risultava citotossico per gli spermatociti pachitene: questo effetto era evidenziato dalla formazione di spermatidi ingrossati, probabilmente diploidi. Alla dose di 500 mg/kg invece, diversi tipi cellulari erano danneggiati (spermatogoni A, spermatociti preleptotene, leptotene e zigotene).

Nell'epitelio seminifero di ratto, 21 giorni dopo la somministrazione per i.p. di una dose unica di 130 mg/kg p.c., l'alterazione più evidente era l'arresto dello sviluppo morfologico degli spermatidi, evidenziato dall'aumento di anomalie della testa e da un'alterata condensazione della cromatina nucleare (22); gli spermatidi con morfologia alterata, erano spermatociti nella fase pachitene al momento dell'iniezione. È stato ipotizzato che l'inibizione della sintesi di RNA in queste cellule fosse responsabile degli effetti osservati negli spermatidi. La condensazione del DNA nel nucleo degli spermatidi richiede infatti la sintesi di proteine specifiche (istoni, proteine di transizione, protamine) ed è noto che gli spermatociti pachitene sono cellule molto attive nella sintesi del RNA e delle proteine.

In questo studio sono stati osservati altri effetti sul processo di spermatogenesi, in particolare gli spermatidi nello stadio VIII del ciclo spermatogenico non presentavano il normale orientamento verso la membrana basale dell'epitelio seminifero. Vi era inoltre un aumento della fagocitosi degli spermatidi più maturi e un'inibizione del loro rilascio nel lume del tubulo. Questi effetti sono stati associati ad alterazioni indotte dal 5-FU sulla cellula del Sertoli, piuttosto che sugli spermatidi stessi che sono metabolicamente inattivi e pertanto resistenti agli agenti che interferiscono con i processi di sintesi. La somministrazione di 5-FU provocava inoltre nella cellula del Sertoli, alterazioni a livello dei nucleoli: è ipotizzabile che il 5-FU inibisca la sintesi del DNA concentrato in questi nucleoli, limitando la disponibilità dei suoi precursori. Si osservava inoltre nella cellula del Sertoli un aumento dei lipidi nel citoplasma, probabilmente associato alla fagocitosi degli spermatidi.

Studi di tossicità sub-cronica con dosi ripetute

In un recente studio il 5-FU è stato somministrato per via orale (gavaggio) in dosi ripetute di 20 e 30 mg/kg p.c. per 2 settimane e di 20 mg/kg/p.c per 4 settimane (27). Nei gruppi trattati è stata osservata una diminuzione dose-dipendente del peso corporeo, con riduzione dei pesi della prostata e dell'epididimo. All'esame istologico l'epitelio seminifero risultava in degenerazione, ed erano particolarmente ridotti gli spermatociti pachitene; si osservavano inoltre delle cellule giganti multinucleate nell'epitelio seminifero, dei vacuoli nella cellula del Sertoli e dei residui di cellule nei dotti epididimali.

Mitomicina C (MC)

La MC è un antibiotico che interferisce con la sintesi del DNA. Uno studio sulla sintesi di DNA nelle cellule germinali ha mostrato che nel trattamento con MC, gli spermatogoni di tipo A2, A3 e A4 erano le prime cellule ad essere alterate, due o tre giorni dopo il trattamento; inoltre, in alcuni stadi del ciclo spermatogenico si osservava una inibizione della sintesi di DNA (28).

Studi di tossicità a breve termine con dosi singole

Alcuni studi sono stati condotti sul topo per verificare se il trattamento con MC produceva l'apoptosi delle cellule germinali (morte cellulare conseguente alla frammentazione del DNA) (29, 30). In seguito alla somministrazione per i.p. di dosi singole (fino a 5 mg/kg p.c.), la marcatura citochimica della frammentazione del DNA *in situ*, 3-5 giorni dopo l'iniezione, mostrava un aumento significativo della percentuale di tubuli seminiferi con la presenza di cellule apoptotiche; il processo di apoptosi era più comune tra gli spermatogoni che tra gli spermatociti. L'ipotesi che l'apoptosi delle cellule germinali sia un meccanismo per eliminare le cellule con il DNA danneggiato o con aberrazioni cromosomiche è stata saggiata attraverso il test dei micronuclei. Un'aumentata frequenza di micronuclei nelle cellule germinali, è stata osservata negli animali sacrificati 10 e 19 giorni dopo la somministrazione i.p. di una dose singola; l'induzione di micronuclei era invece meno evidente negli animali sacrificati 3 giorni dopo il trattamento (31).

Studi di tossicità sub-cronica con dosi ripetute

La somministrazione di dosi di MC (1 e 2 mg/kg p.c.) per i.p. una volta a settimana ripetute per 6-8 settimane, induceva nel ratto una riduzione del peso del testicolo e del numero di spermatidi e spermatociti (32).

Vinblastina (VB)

La VB appartiene alla classe dei Vinca alcaloidi ed è nota per i suoi effetti sul fuso mitotico. Inibisce *in vitro* e *in vivo* la polimerizzazione della tubulina legandosi a siti specifici di questa proteina e limitando la formazione dei microtubuli durante alcune fasi del processo di divisione cellulare. La sua azione citotossica, come per altri veleni mitotici, ad esempio la colchicina, è prevalentemente associata all'inibizione della formazione dei microtubuli (33). Questo meccanismo d'azione sembra essere responsabile degli effetti citotossici osservati sulle cellule germinali; la vinblastina, contrariamente agli agenti alchilanti, non sembra infatti indurre effetti diretti sul DNA delle cellule germinali. Uno studio sulla sintesi del DNA negli spermatogoni e negli spermatociti in fase preleptotene di ratto, ha inoltre dimostrato che la VB (1,25 mg/kg per i.p.) non era in grado di alterare l'incorporazione di timidina marcata in diversi segmenti del tubulo seminifero, corrispondenti a specifici stadi del processo spermatogenico. Questo risultato indicava un'assenza di effetto sulla sintesi del DNA a livello delle cellule germinali a più rapida proliferazione (28).

Studi di tossicità a breve termine con dosi singole

In uno studio condotto sul topo la somministrazione i.v. di VB a dosi elevate non induceva la distruzione degli spermatogoni in via di differenziamento e degli spermatociti in fase meiotica (4). La presenza di cellule giganti o di spermatidi diploidi con un corredo cromosomico doppio indicava invece un'anomalia nel processo di divisione meiotica probabilmente per una interazione con il fuso mitotico. L'induzione di aneuploidia in cellule somatiche e germinali è stata osservata in altri studi condotti nel topo e nel ratto (34, 35).

Nel topo, gli effetti a lungo termine della VB sulla spermatogenesi sono stati studiati fino a 70 giorni dopo la somministrazione i.p. di dosi comprese tra 0,05 e 8 mg/kg p.c. Con dosi ≥ 1 mg/kg il peso dei testicoli era significativamente ridotto 35 giorni dopo il trattamento. Significative alterazioni dose-dipendenti dei rapporti tra i diversi tipi cellulari sono state evidenziate con la tecnica della citometria a flusso, a diversi tempi dopo il trattamento. I risultati ottenuti suggerivano che alle dosi di 0,5 mg/kg la VB era citotossica per diverse popolazioni di cellule germinali (36).

Nel ratto, l'iniezione intratesticolare di VB o di colchicina provocava, dopo 6 ore, l'inibizione della formazione dei microtubuli nel citoplasma della cellula del Sertoli e un arresto della mitosi e della meiosi delle cellule germinali con conseguente ridotta proliferazione degli spermatogoni e degli spermatociti. L'arresto della meiosi indicava che la VB e la colchicina erano in grado di oltrepassare la barriera emato-testicolare e raggiungere le cellule germinali più mature; gli spermatidi in via di allungamento non risultavano tuttavia alterati dal trattamento. L'effetto più caratteristico osservato in questo studio era il rilascio delle cellule germinali immature spesso associate a porzioni apicali della cellula del Sertoli nel lume dei tubuli. La distruzione dei microtubuli induceva una modificazione del citoscheletro della cellula del Sertoli e della sua conformazione, rendendola asimmetrica e quindi meno

stabile. Questa alterazione della struttura portava ad un distacco anticipato delle cellule germinali.

Osservazioni compiute successivamente mostravano che la cellula del Sertoli era in grado di riformare i microtubuli, senza tuttavia riacquistare la sua normale configurazione; la spermatogenesi risultava inoltre fortemente alterata (37).

Studi di tossicità sub-cronica con dosi ripetute

In uno studio sub-cronico la somministrazione di VB per i.v., a dosi settimanali comprese tra 0,08 e 1,28 mg/kg p.c. ripetute per 4 settimane, causava nel ratto ipoplasia testicolare e riduzione della produzione di spermatozoi in presenza di tossicità sistemica; la gravità degli effetti era correlata alla dose (38).

Cisplatino (CP)

Il CP interferisce sulla proliferazione cellulare con un meccanismo simile a quello degli agenti alchilanti. Inibisce infatti, sia nelle cellule germinali che somatiche, la replicazione del DNA legandosi alle sue catene e inibisce la conseguente trascrizione del RNA. Inoltre, il CP è in grado di formare addotti platino-DNA stabili in diversi tessuti (39). Questo effetto potrebbe essere significativo per l'insorgenza di danni riproduttivi associati all'esposizione paterna.

Studi di tossicità a breve termine con dosi singole

Nei modelli animali il CP induce, oltre agli effetti sulla replicazione delle cellule germinali, alterazioni strutturali e funzionali della cellula del Sertoli e della cellula di Leydig.

Una drastica riduzione del 95% del numero di spermatozoi e una significativa inibizione della sintesi del DNA (36%) sono state osservate nel testicolo di topo 5 giorni dopo la somministrazione i.p. di una dose unica (8 mg/kg p.c.) con una riduzione della motilità degli spermatozoi epididimali (40). In altri studi condotti nel topo e nel ratto, le cellule più vulnerabili dell'epitelio seminifero erano gli spermatogoni in via di differenziamento (5, 41). Nel topo una dose i.v. di 1,1 mg/kg p.c. provocava una riduzione del 50% degli spermatogoni in via di differenziamento; a dosi più alte (>10 mg/kg) il CP era citotossico anche per gli spermatogoni indifferenziati e per le cellule germinali più mature come spermatozoi zigotene e spermatozoi. La somministrazione di CP induceva inoltre la formazione di spermatozoi ingrossati, probabilmente diploidi, e alcuni spermatozoi binucleati (5).

Nel ratto il trattamento con CP risultava ugualmente citotossico per gli spermatozoi preleptotene (41). In un altro studio sul ratto l'analisi istopatologica qualitativa e quantitativa del testicolo, effettuata 6 giorni dopo una somministrazione di due dosi di 5 mg/kg p.c., mostrava ancora una volta che le cellule più vulnerabili erano gli spermatogoni; l'assenza totale degli spermatogoni A₄ e B, in alcuni stadi specifici, indicava che le cellule danneggiate al momento dell'iniezione erano gli spermatogoni A₁, A₂ e A₃ (22). L'analisi qualitativa mostrava una degenerazione delle cellule meiotiche e degli spermatozoi secondari; le cellule danneggiate al momento dell'iniezione erano quindi gli spermatozoi in pachitene. Il CP inoltre causava una riduzione delle dimensioni e della frequenza dei nucleoli nella cellula del Sertoli e inibiva il rilascio degli spermatozoi maturi nel lume del tubulo.

Altre osservazioni suggeriscono una possibile interazione del CP sulla cellula del Sertoli, in particolare nel ratto sono state evidenziate in seguito alla somministrazione di 10 mg/kg (dose

unica o 5 dosi di 2 mg) modificazioni strutturali della barriera emato-testicolare (41, 42). L'allargamento delle giunzioni intercellulari tra le cellule del Sertoli, persisteva fino a 40 giorni dopo la somministrazione. Inoltre la riduzione di una proteina specifica sintetizzata dalla cellula del Sertoli (ABP, Androgen-Binding-Protein) nel testicolo e nell'epididimo, l'aumento significativo della sua concentrazione nel siero e l'alterazione di alcuni parametri biochimici nel fluido tubulare, indicavano un effetto del CP sulla funzione secretoria della cellula del Sertoli.

Nel topo la somministrazione i.p. di dosi di CP (3, 6 e 12 mg/kg) provocava gravi alterazioni nella cellula del Sertoli. Pochi giorni dopo il trattamento si osservava un allargamento degli spazi intercellulari, una disintegrazione del citoplasma e del nucleo. La necrosi di diversi tipi di cellule germinali e le anomalie morfologiche degli spermatozoi erano associate alla distruzione della barriera emato-testicolare (43).

Nei roditori sono stati inoltre studiati gli effetti del CP sul sistema endocrino, in particolare sulla steroidogenesi a livello dell'asse ipotalamico-ipofisario-gonadico (44, 45). Nel ratto una dose unica di 7 mg/kg p.c. per iniezione i.v. induceva una riduzione del 50% della concentrazione di testosterone nel testicolo e nel siero. Questo effetto era associato nel testicolo ad una diminuzione significativa dei sistemi enzimatici coinvolti nella steroidogenesi (citocromo P450 mitocondriale, citocromo P450 e 17-alfa-idrossilasi microsomiali) e ad una riduzione, nella cellula del Leydig, dei recettori per l'ormone ipofisario LH (45).

In un altro studio, la somministrazione di una dose di 5 mg/kg, nel ratto causava una riduzione dei livelli del testosterone e un aumento del LH nel sangue. Dopo 3 giorni dal trattamento si osservavano, nelle cellule del Sertoli e del Leydig, dilatazioni del reticolo endoplasmatico, alterazioni strutturali dei mitocondri e un aumento del numero dei corpi inclusi. Nonostante l'assenza di danni alla barriera emato-testicolare, le connessioni tra le cellule germinali e le cellule del Sertoli risultavano alterate. Le alterazioni ormonali osservate nel sangue potevano essere pertanto associate ai danni riscontrati sulla cellula del Leydig e alla conseguente alterazione dell'equilibrio ormonale a livello dell'asse ipofisario-gonadico (46).

Riguardo agli effetti citotossici è stata recentemente valutata la capacità del CP di indurre l'apoptosi sulle cellule germinali di topo. Dosi singole (1-10 mg/kg p.c.), somministrate per i.p. causavano un aumento dose-dipendente della frequenza di apoptosi (da 2,6 a 6,8 volte il valore dei controlli), negli spermatogoni, spermatociti e spermatidi. L'insorgenza del processo apoptotico era ritardato alla dose più alta: la più alta frequenza di apoptosi era infatti raggiunta dopo un giorno dal trattamento con 1 mg/kg e dopo 7 giorni da quello con 7 mg/kg (47).

Studi di tossicità sub-cronica con dosi ripetute

Gli studi con dosi ripetute di CP, benché poco numerosi, sono importanti per le informazioni sugli effetti a livello degli spermatozoi epididimali e sulle alterazioni ormonali.

Nel topo una riduzione significativa della conta e della motilità degli spermatozoi e un aumento della percentuale di spermatozoi malformati, sono stati osservati a distanza di 1 e 5 settimane dalla iniezione sottocutanea (s.c.) di una dose di 3 mg/kg p.c./settimana, ripetuta per 5 settimane. Dopo 10 settimane i valori dei parametri seminali ritornavano alla normalità (48).

La somministrazione cronica per i.p. di dosi relativamente basse (0,5 mg/kg al giorno) per 9 settimane nel ratto induceva, dalla seconda settimana di trattamento, un rallentamento nella crescita, una riduzione dei pesi degli organi riproduttivi e della conta spermatica. Il testosterone plasmatico e serico era ridotto dalla terza settimana e non risultava più misurabile dalla sesta settimana in poi; la motilità degli spermatozoi risultava invece alterata durante l'intero periodo di somministrazione. Tuttavia il CP non modificava la risposta ipofisaria alla stimolazione con ormoni rilascianti le gonadotropine. Infine nei test di accoppiamento, si

osservava un aumento delle perdite embrionali pre- e post-impianto e un aumento del numero di feti malformati o con crescita ritardata, mentre non era evidenziata una riduzione della fertilità (49).

Conclusioni

Gli studi su modelli animali descritti in questo capitolo sono stati prevalentemente indirizzati alla valutazione dei possibili effetti a breve e lungo termine indotti da farmaci antiblastici, sulla funzione riproduttiva nell'adulto. Gli studi sugli esiti riproduttivi come aborti precoci, ritardi di crescita, anomalie morfologiche, associati ad alterazioni genetiche delle cellule germinali trasmissibili alla prole e indotti dall'esposizione paterna, sono stati invece solo brevemente accennati.

I risultati emersi dall'analisi hanno evidenziato alcune caratteristiche tossicologiche degli agenti antiblastici:

- La suscettibilità dei vari tipi di cellule germinali, presenti nei tubuli seminiferi del testicolo, risulta, infatti, generalmente associata al meccanismo citotossico specifico dell'agente antiblastico. Gli studi sui roditori hanno evidenziato che gli spermatogoni in via di differenziamento, con una attività proliferativa molto intensa, sono particolarmente vulnerabili all'azione dei farmaci antiblastici, che interferiscono con la replicazione o con i processi di sintesi del DNA (ciclofosfamide, mitomicina C, cisplatino). Gli spermatociti, risultano invece più sensibili a sostanze che interferiscono con la sintesi di RNA e di proteine specifiche (fluorouracile) o a veleni del fuso mitotico (vinblastina) in grado di interagire con il processo di meiosi.
- La specificità dell'azione, riguardo al tipo cellulare, tende a scomparire con la somministrazione di dosi più alte. La ciclofosfamide che inibisce preferibilmente la replicazione degli spermatogoni è citotossica nel topo per tutti i tipi di cellule germinali se somministrata a dosi ripetute; il fluorouracile, con una attività specifica sugli spermatociti in pachitene, risulta invece, a dosi più elevate, citotossico per gli spermatogoni e per gli spermatociti preleptotene, leptotene e zigotene. Una dose di cisplatino, 10 volte superiore a quella che induce una riduzione del 50% degli spermatogoni in via di differenziamento, danneggia gli spermatogoni indifferenziati e le cellule germinali più mature.
- L'azione citotossica a breve termine di uno specifico agente, sulla cellula germinale più vulnerabile, provoca effetti rilevabili nelle fasi successive del processo di formazione degli spermatozoi. Ad esempio, nei roditori, la riduzione del numero di spermatogoni in via di differenziamento, evidenziata poco dopo la somministrazione di un agente alchilante, causa dopo circa 28 giorni una riduzione degli spermatidi più maturi; l'inibizione della sintesi di RNA negli spermatociti, indotta dal fluorouracile, causa la formazione di spermatidi morfologicamente alterati, dopo 21 giorni.
- L'azione degli antiblastici può esplicarsi su altri componenti cellulari del tratto riproduttivo o sugli ormoni coinvolti nel controllo della spermatogenesi. La cellula del Sertoli, in particolare, costituisce, per alcuni farmaci, un bersaglio primario responsabile di danni alla spermatogenesi. La vinblastina altera il citoscheletro della cellula del Sertoli causando delle anomalie nel processo di distacco degli spermatidi maturi, nel lume dei tubuli seminiferi; le modificazioni indotte sulla barriera emato-testicolare rendono inoltre le cellule post-meiotiche più accessibili ad un eventuale azione diretta degli antiblastici.

- La reversibilità degli effetti e il tempo necessario per il recupero della normale funzionalità della spermatogenesi è strettamente associata al numero e al tipo di cellule germinali danneggiate dall'antiblastico.

In conclusione, alcune considerazioni possono essere tratte dalle informazioni riportate in questa breve rassegna: a) gli studi condotti sugli animali permettono di chiarire i meccanismi d'azione degli antiblastici; b) per le similitudine esistenti tra varie specie (compreso l'uomo) nel processo di spermatogenesi e nella risposta ad agenti nocivi, gli studi tossicologici possono essere predittivi del rischio per l'uomo.

Tuttavia è importante sottolineare che mancano gli studi cronici a basse dosi e non vi sono informazioni sugli effetti derivanti da esposizioni per via cutanea e inalatoria. Queste condizioni sperimentali sarebbero invece molto rilevanti ai fini di una valutazione del rischio riproduttivo associato all'esposizione professionale ad antiblastici.

Ringraziamenti

Studio finanziato dal Progetto Intramurale "Modelli per la valutazione del rischio riproduttivo di sostanze ambientali" (Progetto 1128/RI, Art. 12 Decreto Legislativo 502/92 ISS).

Bibliografia

1. Schrader M, Müller M, Straub B, Miller K. The impact of chemotherapy on male fertility: a survey of the biologic basis and clinical aspects. *Reprod Toxicol* 2001;15:611-7.
2. Petersen PM, Hansen SW, Giwercman A, Rorth M., Skakkeback NE. Dose-dependent impairment of testicular function in patients treated with cisplatin-based chemotherapy for germ cell cancer. *Ann Oncol* 1994;5:355-8.
3. Pont J, Albrecht W. Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer. *Fertil Steril* 1997; 68:1-5.
4. Lu CC, Meistrich ML. Cytotoxic effects of chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. *Cancer Res* 1979;39:3575-82.
5. Meistrich ML, Finch M, da Cunha MF, Hacker U, Au WW. Damaging effects of fourteen chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. *Cancer Res* 1982;42:122-31.
6. Meistrich ML. Relationship between spermatogonial stem cell survival and testis function after cytotoxic therapy. *Br J Cancer* 1996;7:89-110.
7. Green DM, Fiorello A, Zevon MA, Hall B, Seigelstein N. Birth defects and childhood cancer in offspring of survivors of childhood cancer. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997;151:379-83.
8. Byrne J. Long term genetic and reproductive effects of ionizing radiation and chemotherapeutic agents on cancer patients and their offspring. *Teratology* 1999;59:210-5.
9. Blatt J. Pregnancy outcome in long-term survivors of childhood cancer. *Med Pediatr Oncol* 1999; 33:29-33.
10. Bajnoczky K, Khezri S, Kajtar P, Szucs R., Kosztolanyi G, Mehes K. No chromosomal instability in offspring of survivors of childhood malignancy. *Cancer Genet Cytogenet* 1999;109:79-80.
11. Trasler JM, Doerksen T. Teratogen update: paternal exposures- reproductive risks. *Teratology* 1999;60:161-72.
12. Hales BF, Smith S, Robaire B. Cyclophosphamide in the seminal fluid of treated males: transmission to females by mating and effects on progeny outcome. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;84:423-30.

13. Hales BF, Crosman K, Robaire B. Increased postimplantation loss and malformations among the F2 progeny of male rats chronically treated with cyclophosphamide. *Teratology* 1992; 45:671-8.
14. Trasler JM, Hales BF, Robaire B. Chronic low dose cyclophosphamide treatment of adult male rats: effect on fertility, pregnancy outcome and progeny. *Biol Reprod* 1986; 34: 275-83.
15. Trasler JM, Hales BF, Robaire B. A time course study of chronic paternal cyclophosphamide treatment in rats: effects on pregnancy outcome and the male reproductive and hematologic systems. *Biol Reprod* 1987; 37:317-26.
16. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medical Products). ICH M3(M). Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. London: EMAEA; 2000.
17. Qiu J, Hales BF, Robaire B. Damage to rat spermatozoal DNA after chronic cyclophosphamide exposure. *Biol Reprod* 1995;53:1465-73.
18. Fairley KF, Barrie JU, Johnson W. Sterility and testicular atrophy related to cyclophosphamide therapy. *Lancet* 1972;1:568-9.
19. Watson AR, Rance CF, Bain J. Long term effects of cyclophosphamide on testicular function. *Br Med J* 1985;291:1457-60.
20. da Cunha MF, Meistrich ML, Nader S. Absence of testicular protection by a gonadotropin-releasing hormone analogue against cyclophosphamide-induced testicular cytotoxicity in the mouse. *Cancer Res* 1987;47:1093-7.
21. Spano M, Bartoleschi C, Cordelli E, Leter G, Tiveron C, Pacchierotti F. Flow cytometric assessment of trophosphamide toxicity on mouse spermatogenesis. *Cytometry* 1996; 24:174-80.
22. Russell LD, Russell JA. Short-term morphological response of the rat testis to administration of five chemotherapeutic agents. *Am J Anat* 1991; 192:142-68.
23. Matsumoto S, Hirakawa M, Shimomoto T, Sato M, Kitaura K, Minami T. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 13). Effects of a single oral dose of cyclophosphamide. *J Toxicol Sci* 2000; 25:139-43.
24. Watanabe T, Yamaguchi Y, Akiba T, Tanaka M, Takimoto M. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 12). Effects of cyclophosphamide on spermatogenesis. *J Toxicol Sci* 2000;25:129-37.
25. Trasler JM, Hermo L, Robaire B. Morphological changes in the testis and epididymis of rats treated with cyclophosphamide: a quantitative approach. *Biol Reprod* 1988;38:463-79.
26. Velez de la Calle JF, de Quieroz F, Granier DH, Kercret H, Folliot R, Jegou B. Reproductive effects of the anticancer drug cyclophosphamide in male rats at different ages. *Arch Androl* 1989;22:251-63.
27. Inomata A, Matsumoto H, Horii I. Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 18). Comparative 4 and 2 weeks oral repeated dosing studies on male reproductive organs in rats treated with 5-fluorouracil. *J Toxicol Sci* 2000;25:179-86.
28. Sjoblom T, Parvinen M, Lahdatie J. Stage-specific DNA synthesis of rat spermatogenesis as an indicator of genotoxic effects of vinblastine, mitomycin C and ionizing radiation on rat spermatogonia and spermatocytes. *Mutat Res* 1995;331:181-90.
29. Matsuura I, Hoshino N, Wako Y, Tani E, Satour T, Aoyama R, Ikeda Y. Sperm parameter studies on three testicular toxicants in rats. *Teratology* 1995;39B.
30. Nakagawa S, Mori C, Nakamura N, Shiota K.. Spermatogenic cell apoptosis induced by mitomycin C in the mouse testis. *Teratology* 1996;53: 117.
31. Nakagawa S, Nakamura N, Fujioka M, Mori C. Spermatogenic cell apoptosis induced by mitomycin C in the mouse testis. *Toxicol App Pharmacol* 1997;147:204-13.

32. Nakagawa S, Mori C. Detection of mitomycin C induced testicular toxicity by micronucleus assay and TUNEL (TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling). *Teratology* 1998;57:257.
33. Jordan MA, Thrower D, Wilson L. Mechanism of inhibition of cell proliferation by vinca alkaloids. *Cancer Res* 1991;51:2212-22.
34. Leopardi P, Zijno A, Bassani B, Pacchierotti F. In vivo studies on chemical induced aneuploidy in mouse somatic and germinal cells. *Mutat Res* 1993;287:71-6.
35. Kallio M, Sjöblom T, Lähdetie J. Effects of vinblastine and colchicine on male rat meiosis in vivo: Disturbances in spindle dynamics causing micronuclei and metaphase arrest. *Environ Mol Mutagenesis* 1995;25:106-7.
36. Jagetia GC, Krishnamurthy H, Jyothi P. Evaluation of cytotoxic effects of different doses of vinblastine on mouse spermatogenesis by flow cytometry. *Toxicology* 1996;112:227-36.
37. Russell LD, Malone JP, MacCurdy DS. Effect of the microtubule disrupting agents, colchicine and vinblastine, on seminiferous tubule structure in the rat. *Tissue Cell* 1981;13:349-67.
38. Zimmermann JL, Todd GC, Tamura RN. Target organ toxicity and leukopenia in Fischer 344 rats given intravenous doses of vinblastine and desacetylvinblastine. *Fundam Appl Toxicol* 1991;17:482-93.
39. Reed E. Cisplatin. *Cancer Chemother Biol Response Modif* 1999;144-51.
40. Vawda AI, Davies AG. Effects of cisplatin on the mouse testis. *Acta Endocrinol* 1986;112: 436-41.
41. Huang HF, Pogach LM, Nathan E, Giglio W. Acute and chronic effects of cisplatin upon testicular function in the rat. *J Androl* 1990;11:436-45.
42. Pogach LM, Lee Y, Gould S, Giglio W, Meyenhofer M, Huang HF. Characterization of cisplatin-induced Sertoli cell dysfunction in rodents. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989;98:350-61.
43. Kopf-Maier P. Effect of carboplatin on the testis. A histological study. *Cancer Chemother Pharmacol* 1992, 29:227-35.
44. Maines MD. Effects of cis-platinum on heme, drug and steroid metabolism pathways: possible involvement in nephrotoxicity and infertility. *Crit Rev Toxicol* 1990;21:1-20.
45. Maines MD, Sluss PM, Iscan M. Cis-platinum-mediated decrease in serum testosterone is associated with depression of luteinizing hormone receptors and cytochrome P450 in rat testis. *Endocrinology* 1990;126:2398-06.
46. Aydiner A, Aytakin Y, Topuz E. Effects of cisplatin on testicular tissue and the Leydig cell-pituitary axis. *Oncology* 1997;54:74-8.
47. Zhang X, Yamamoto N, Soramoto S, Takenaka I. Cisplatin-induced germ cell apoptosis in mouse testes. *Arch Androl* 2001; 46:43-9.
48. Oshio S, Tomomasa H, Amemiya H, Yazaki T, Mohri H, Umeda T, Waku M. Damaging effects of cisplatin on mouse spermatozoa. *Arch Androl* 1990; 24:113-20.
49. Seethalakshmi L, Flores C., Kinkead T, Carboni AA, Malhotra RK, Menon M. Effects of subchronic treatment with cis-platinum on testicular function, fertility, pregnancy outcome and progeny. *J Androl* 1992;13:65-74.

VALUTAZIONE SOGGETTIVA DEL RISCHIO TRA INFERMIERI ESPOSTI AD ANTIBLASTICI

Caterina Vollono (a), Anna Maria Giannelli (b), Grazia Petrelli (b)

(a) *Laboratorio di Igiene Ambientale, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Introduzione

L'estensione del campo di applicazione di alcuni farmaci antiblastici (chemioterapici antiblastici, CA) alla terapia di patologie non oncologiche, la sempre più frequente somministrazione in ambiente domestico (1) e la continua immissione sul mercato di nuovi principi attivi rafforza la necessità di monitorare con attenzione l'esposizione dei lavoratori sanitari coinvolti nell'allestimento e nella somministrazione di questi agenti.

Sulla tossicità degli CA negli ultimi decenni sono stati condotti numerosi studi relativi all'esposizione professionale (2-5). Il primo articolo sull'esposizione professionale ad antiblastici degli infermieri è comparso su *Lancet* nel 1979 (6). L'autore aveva riscontrato un'elevata mutagenicità delle urine d'infermiere oncologiche con esposizioni professionali basse ma continuative. Successivamente è stata rilevata la presenza di CA nell'aria degli ambienti destinati alla preparazione dei farmaci antiblastici (7, 8).

A seguito delle osservazioni riportate da numerosi studi, sono state adottate, in alcuni Paesi, misure di sicurezza e sono state emanate linee guida per ridurre l'esposizione dei lavoratori. In Italia, malgrado la presenza di raccomandazioni specifiche e rigorose per la tutela dei lavoratori (si rimanda al capitolo delle linee guida) resta la difficoltà di diffondere le corrette informazioni per la riduzione dell'esposizione in ambiente lavorativo (9).

Si riportano i risultati di uno studio che aveva l'obiettivo di acquisire conoscenza sull'esposizione lavorativa al fine di contribuire alla definizione di un modello di intervento rivolto alla riduzione dei rischi in ambiente professionale. Per le note difficoltà ad acquisire dati quantitativi sull'esposizione lavorativa a CA, si è proceduto a rilevare alcune informazioni sulla percezione del rischio e le modalità di esposizione del personale infermieristico operante nelle strutture sanitarie, sull'esempio di analoghi studi condotti su popolazioni lavorative esposte (4, 10-12).

Metodi

Lo studio è stato condotto tra gli infermieri e le infermiere operanti nelle strutture ospedaliere pubbliche e private di Roma e della Provincia di Viterbo. Lo studio è stato rivolto ai lavoratori afferenti a tutti i reparti ospedalieri supponendo che tutti possono essere esposti, anche occasionalmente, ad antiblastici. L'indagine ha coinvolto 1200 infermieri estratti casualmente dalle liste degli iscritti al collegio Infermieri Professionali, Assistenti Sanitari e Vigilatrici d'Infanzia (IPASVI) di Roma e la totalità degli infermieri del collegio IPASVI di Viterbo (1233).

Adottando la metodologia dell'indagine postale (10, 13), ai partecipanti di entrambi i gruppi è stato inviato un questionario accompagnato da una lettera che descriveva gli obiettivi della

ricerca. Dopo circa quattro mesi è stato effettuato un sollecito con un nuovo invito ad aderire allo studio. È stato utilizzato un unico questionario per consentire confronti tra le due popolazioni.

Il questionario era articolato in due parti. La prima era volta a rilevare caratteristiche socio-demografiche, tipo di struttura (pubblica o privata), mansione e anni di attività. La seconda parte era strutturata per rilevare la percezione del rischio dei lavoratori in merito all'esposizione ad antiblastici e ricostruire attraverso opinioni e comportamenti riferiti dai lavoratori stessi le modalità di esposizione. I quesiti, pertanto, erano relativi a: 1) la percezione del rischio su alcuni agenti chimici e fisici presenti nell'ambiente di lavoro; 2) il grado di conoscenza sulla pericolosità degli antiblastici; 3) l'accertamento dell'esposizione lavorativa ad antiblastici (attuale o in passato); 4) il grado di fiducia verso le protezioni individuali e ambientali; 5) la formazione degli infermieri sulla pericolosità degli antiblastici; 6) la rilevazione di eventuali contaminazioni accidentali (14).

L'analisi dei due gruppi è stata condotta separatamente per mettere a confronto la percezione del rischio di infermieri delle due differenti aree. Non è stata effettuata l'analisi per sesso poiché non sono state rilevate differenze significative.

Risultati

Su 1200 infermieri di Roma e 1233 di Viterbo, invitati a partecipare allo studio, sono pervenute 254 risposte per Roma (134 uomini e 116 donne) e 261 per Viterbo (87 uomini 174 donne) con una percentuale di risposte del 21,2 e 22,1 rispettivamente. Gli infermieri sono risultati prevalentemente diplomati, la percentuale più elevata di licenza media si ha tra gli infermieri uomini di Viterbo; trascurabile è il numero di laureati. Gli esposti agli antiblastici sono risultati pari al 49,2% a Roma e 55,6% a Viterbo, entrambi le percentuali suggeriscono un ampio coinvolgimento degli infermieri nell'uso professionale di CA.

Sulla percezione della pericolosità di agenti e sostanze tossiche presenti in ambiente ospedaliero, ciascun infermiere ha espresso il grado di pericolosità sulla base di una valutazione soggettiva senza alcun esplicito richiamo a conoscenze tecnico-scientifiche. I fattori di rischio risultano così ordinati in modo decrescente, secondo una scala di priorità delineata dalle risposte al quesito (Figura 1). Il grafico riporta i livelli di pericolosità per i differenti agenti. Entrambi i gruppi hanno attribuito il più elevato grado di pericolosità agli CA in confronto ad altri agenti, seguono le radiazioni ionizzanti e la formaldeide per gli infermieri di Roma, i gas anestetici per gli infermieri di Viterbo.

Tra il personale sanitario, gli infermieri sono maggiormente impegnati nella preparazione degli CA (61%) rispetto all'8% del personale medico, al 5% dei farmacisti e allo 0,8% dei tecnici di laboratorio. Gli infermieri esposti hanno dichiarato inoltre di essere coinvolti in numerose mansioni relative alle diverse fasi del trattamento, inerenti la preparazione, la somministrazione, la pulizia dei locali adibiti alla preparazione, e lo smaltimento dei materiali contaminati (Figura 2).

Relativamente al grado di conoscenza dei rischi derivanti dalla manipolazione di antiblastici gli infermieri di entrambi i gruppi ritengono di avere prevalentemente un grado medio (44,4% Roma e 39,5% Viterbo) o basso (40% Roma e 39,5% Viterbo) (Figura 3). Uguale tendenza è stata rilevata tra gli esposti e i non esposti.

La maggior parte degli infermieri sia esposti che non esposti, riferiscono di aver ricevuto informazioni sulle precauzioni tecniche e di sicurezza da adottare nella manipolazione di CA, dai colleghi e solo una piccola percentuale riferisce di aver partecipato a corsi di formazione promossi dalla istituzione in cui operano (Tabella 1).

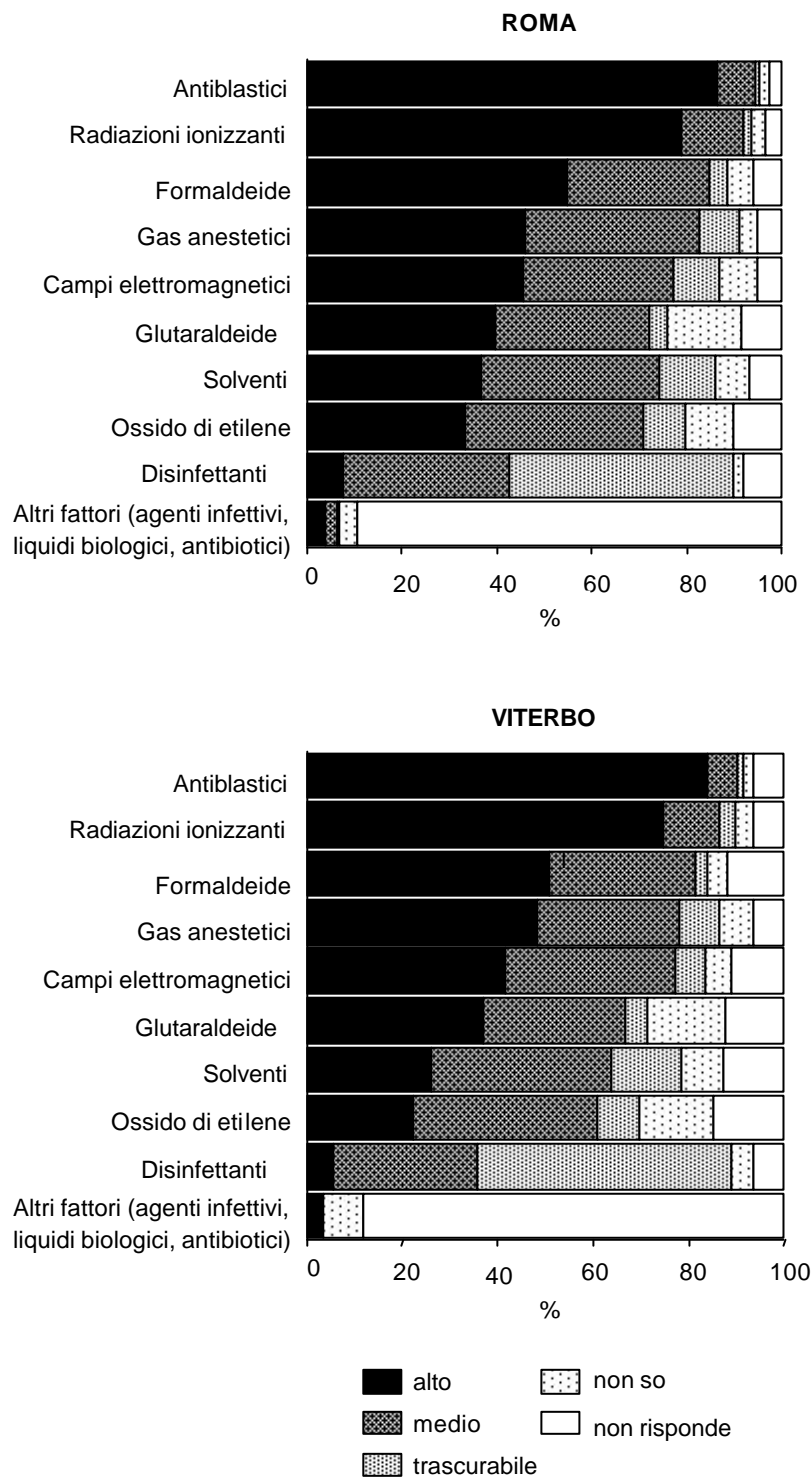


Figura 1. Percezione del grado di pericolosità dei fattori di rischio presenti in ambiente ospedaliero (domanda con risposte multiple)

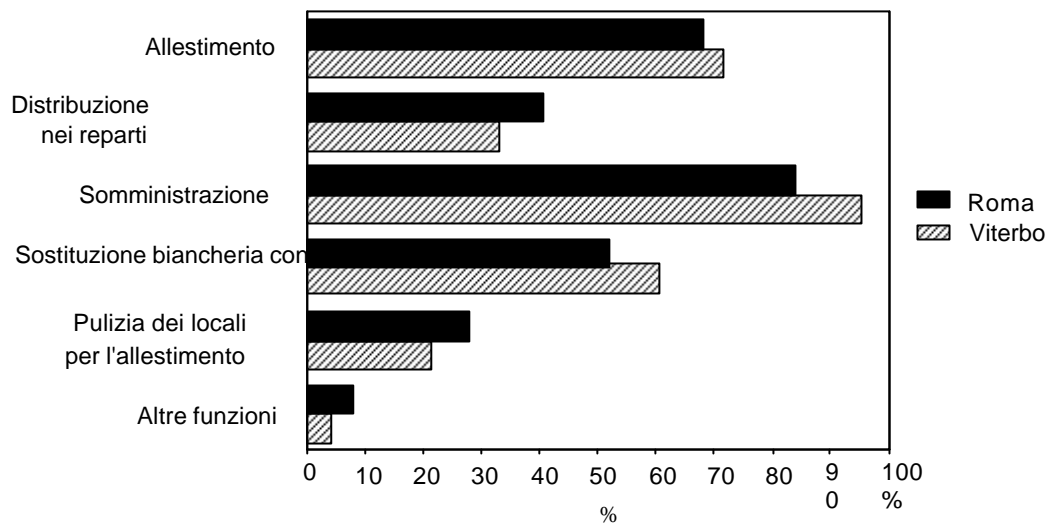


Figura 2. Mansioni effettuate dagli infermieri esposti (domanda con risposte multiple)

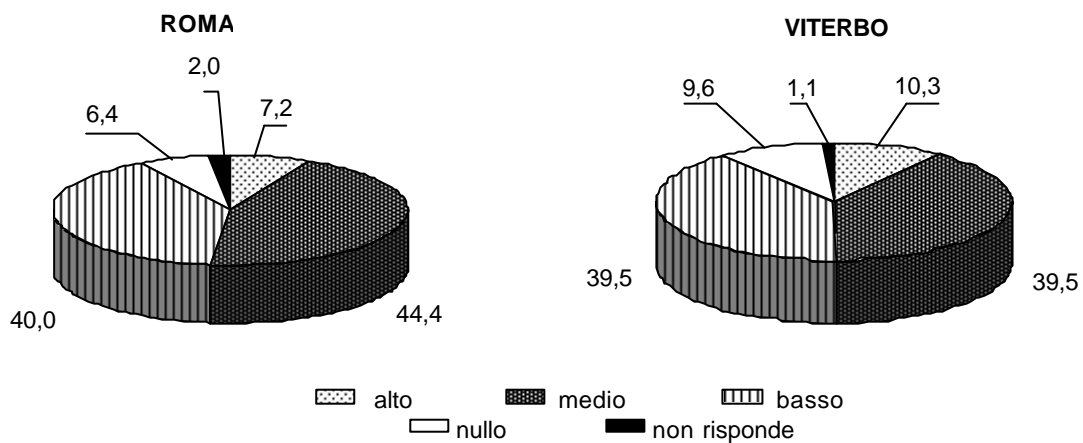


Figura 3. Distribuzione percentuale del grado di conoscenza dei rischi derivanti dalla manipolazione di antiblastici (domanda con risposte multiple)

Tabella 1. Fonti di informazione sulle precauzioni tecniche e di sicurezza relative all'uso degli antiblastici (domanda con risposte multiple)

Fonti di informazione	Roma		Viterbo	
	n.	%	n.	%
Direzione sanitaria	19	13,6	15	11,7
Servizio di medicina del lavoro	8	5,7	24	18,8
Servizio di farmacia	6	4,3	7	5,5
Corsi di formazione	62	44,3	58	45,3
Colleghi	91	65,0	72	55,6
Altre fonti*	38	27,1	33	25,8

* scuole infermieri, medici del reparto

Sulle misure di protezione che contribuiscono a ridurre l'esposizione, la maggioranza degli infermieri hanno espresso un grado «alto» di sicurezza verso le protezioni individuali (come ad esempio occhiali, camici, mascherine) minimizzando l'importanza delle cappe come dispositivo ambientale di protezione. Questo dato potrebbe essere indicativo di una maggiore fiducia verso i dispositivi che possono essere controllati dal lavoratore stesso (Figura 4).

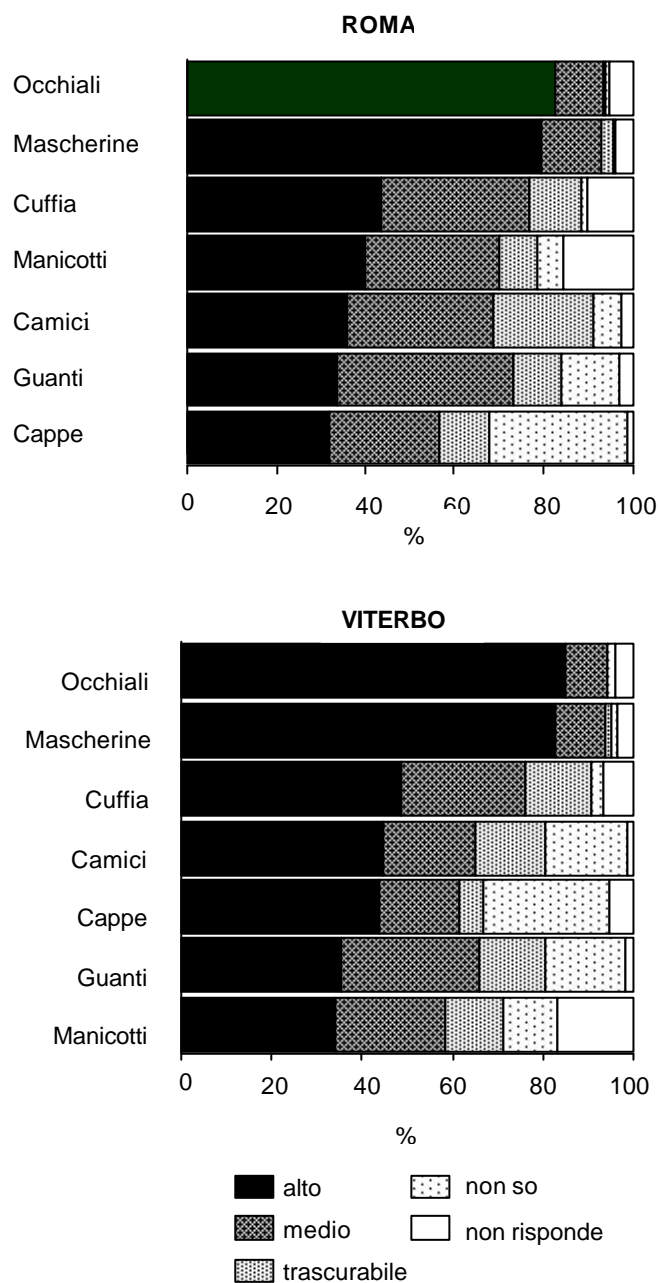


Figura 4. Grado di fiducia nelle misure di protezione individuali e ambientali utilizzate nella manipolazione di antibiotici (domanda con risposte multiple)

Gli infermieri ritengono che la struttura in cui operano non garantisca un alto livello di protezione né per se stessi, né per i pazienti e per gli altri lavoratori; la categoria degli ausiliari è percepita come la categoria meno protetta (Figura 5).

La percentuale di incidenti rilevati tra gli infermieri esposti di Roma e di Viterbo sono rispettivamente del 20 e 19%. In entrambi i gruppi, la maggior parte degli incidenti avviene per contatto durante la somministrazione e per rottura della siringa. Il 26% circa degli infermieri, pur avendo riferito di aver riportato contatto con CA non ricorda la modalità di esposizione (Figura 6). Cinque infermieri hanno riferito di aver riportato danni come eritema, cherato congiuntivite, scollamento dell'unghia della mano.

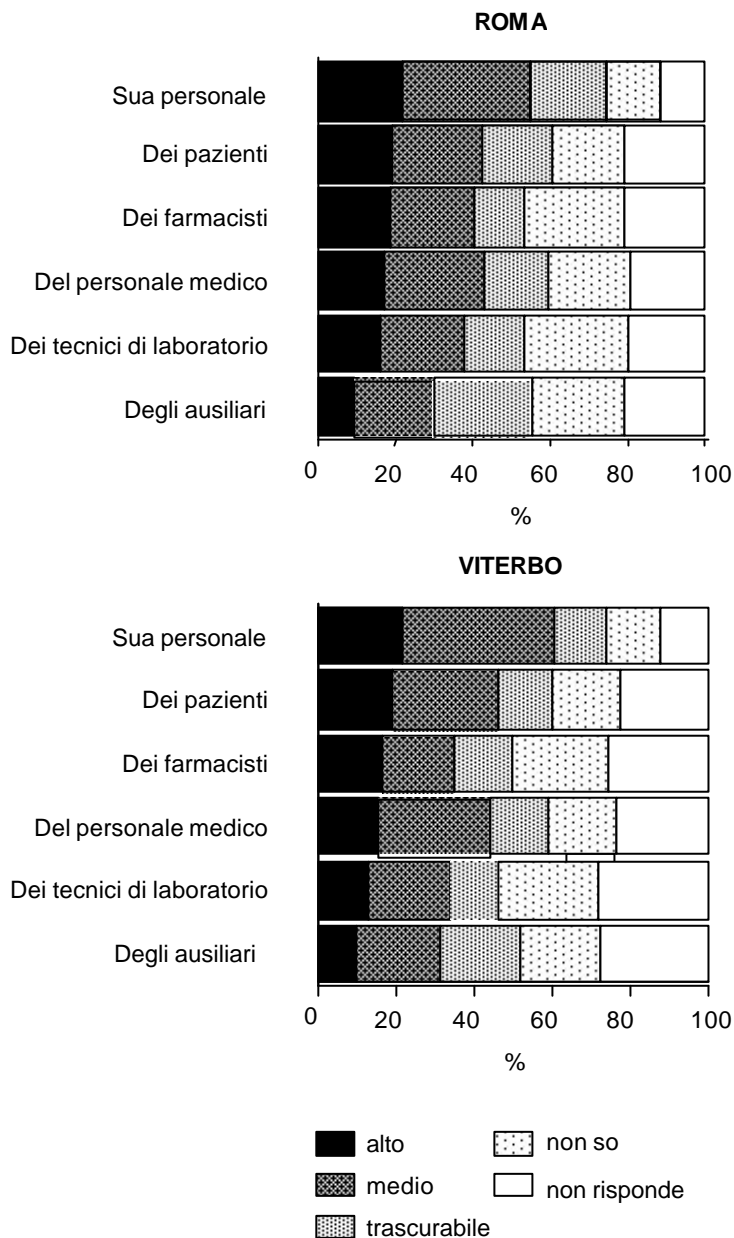


Figura 5. Percezione del grado di sicurezza per il personale coinvolto nelle operazioni di manipolazione di antineoplastici (domanda con risposte multiple)

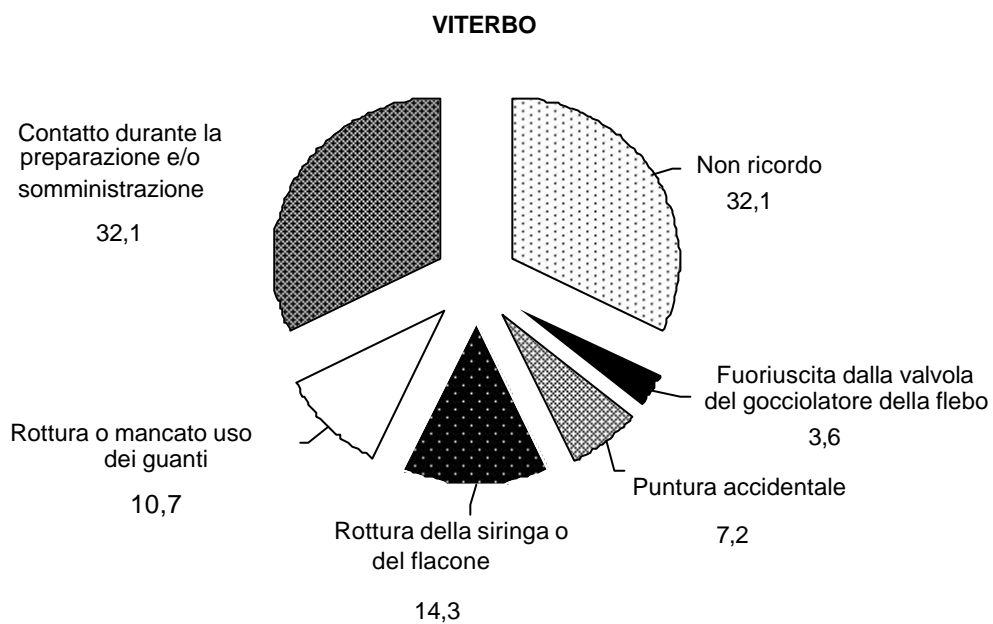
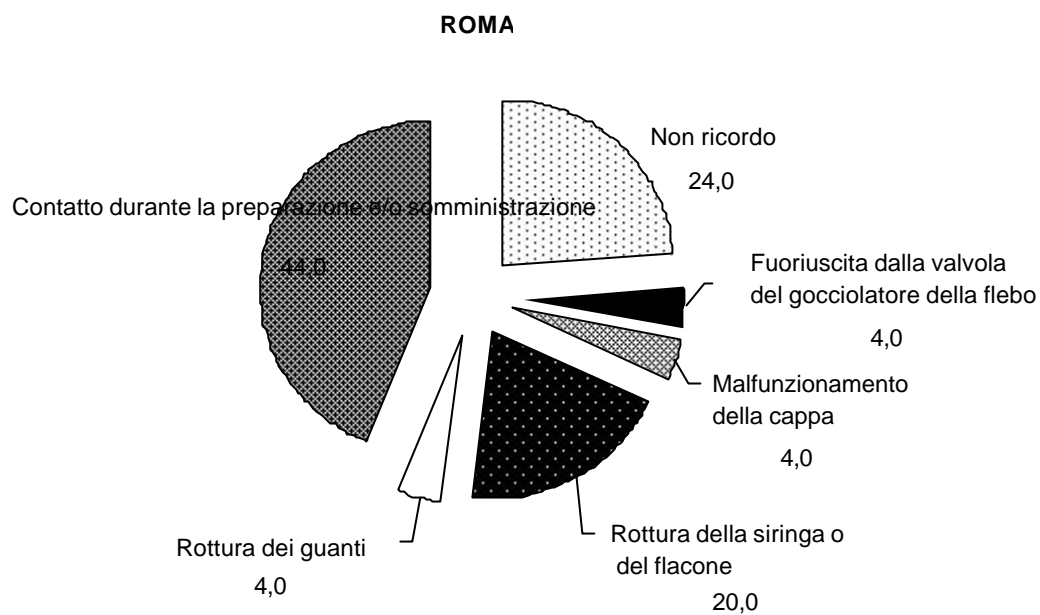


Figura 6. Distribuzioni percentuali delle cause di contaminazioni accidentali da antiblastici riferite agli infermieri (domanda con risposte multiple)

Discussione

È ampiamente documentata la difficoltà ad evidenziare il nesso causale tra esposizioni professionali ad agenti chimici ed effetti avversi anche a causa delle peculiari condizioni di esposizione del personale infermieristico in relazione ai differenti antitumorici manipolati e alle numerose mansioni svolte (15, 16). Generalmente i lavoratori sono esposti a basse dosi delle sostanze per periodi prolungati, ma nella pratica lavorativa l'esposizione può avvenire anche attraverso incidenti occasionali. È ovvio che l'adozione di misure di protezione individuali e ambientali, nonché una buona pratica nell'uso degli antitumorici contribuiscono a ridurre i livelli di esposizione (13).

Le informazioni rilevate, inerenti la percezione del rischio, evidenziano prevalentemente quei comportamenti dei lavoratori nella manipolazione degli CA che potrebbero contribuire ad aumentare l'esposizione, come, ad esempio, la presenza di contaminazioni accidentali, la non adozione delle misure di sicurezza e la scarsa formazione dei soggetti in studio (10, 13). Di conseguenza, questa metodologia di indagine consente di individuare direttamente gli ambiti di intervento su cui focalizzare le azioni per la riduzione dell'esposizione.

Tra gli infermieri inizialmente individuati (1200 per Roma e 1233 per Viterbo) circa il 21% ha partecipato all'indagine. La bassa percentuale di adesione introduce limitazioni nella valutazione dei risultati in quanto non sono note le motivazioni che l'hanno determinata. Si può ipotizzare che in parte sia da attribuire alla metodologia dell'indagine con questionario autocompilato, in parte ad una sottostima della esposizione professionale a CA tra i lavoratori.

Dalla bibliografia internazionale risulta comunque che il grado di rispondenza in indagini postali non è mai elevato (17), così come è altresì noto che i lavoratori esposti ad un rischio poco conosciuto, involontario e i cui effetti sulla salute siano difficilmente evidenziabili tendono a disinteressarsi della specifica problematica sanitaria (18).

Il confronto dei risultati dei due gruppi non mostra differenze significative per i singoli quesiti tra gli infermieri di Roma e di Viterbo, per cui le informazioni rilevate descrivono una omogeneità di opinioni e atteggiamenti tra i rispondenti. L'alto grado di pericolosità attribuito agli CA permette di affermare che tra gli infermieri questi agenti costituiscono effettivamente un fattore di preoccupazione.

Gli incidenti che si verificano durante la manipolazione degli antitumorici, come riportato dai partecipanti all'indagine, si possono considerare elementi utili nella ricostruzione delle modalità di esposizione. L'importanza di sorvegliare le contaminazioni accidentali è sostenuta dall'ipotesi che ripetute esposizioni accidentali possano causare accumulo e indurre, nel lungo periodo di tempo, un effetto cronico nel lavoratore. Inoltre, gli incidenti che avvengono in ambito lavorativo possono rilevare una sottovalutazione del rischio da parte degli esposti e una pratica lavorativa scorretta e poco sicura.

La scarsa informazione riferita dai lavoratori in merito ai pericoli per la salute derivanti dalla manipolazione non corretta di CA può portare ad ipotizzare sia uno scarso interesse verso il problema sia una sottostima degli eventuali pericoli associati ad antitumorici. In questo senso possono essere interpretati i numerosi «non ricordo» rilevati in entrambi i gruppi. Al tempo stesso, gli infermieri dichiarano di aver ricevuto informazioni non sufficienti da parte delle istituzioni sanitarie, che non sembrano promuovere interventi di formazione specifici sull'argomento. A tale proposito va rilevato che le infermiere delle due popolazioni analizzate non mostrano percezione e comportamenti sostanzialmente diversi da quelli dei colleghi maschi. La comunità scientifica ha dedicato particolare attenzione alle problematiche riproduttive nelle lavoratrici, pertanto una maggiore attenzione dovrebbe essere rivolta alle donne in età riproduttiva come suggerito dall'OSHA (Occupational Safety and Health

Administration) e riferito nel capitolo relativo al commento alle linee guida internazionali e nazionali e normativa italiana.

In conclusione, le informazioni rilevate dallo studio suggeriscono:

- un’alta preoccupazione dei lavoratori rispetto alla presenza di antitumorali in ambiente ospedaliero;
- la carenza di informazioni corrette sulle misure di protezione atte a garantire livelli di sicurezza nella pratica professionale;
- l’esigenza a partecipare a corsi di formazione.

Questi elementi meritano una riflessione considerando che nuovi farmaci di cui ancora non è ben nota la tossicità vengono continuamente introdotti nei protocolli terapeutici, che gli CA già noti sono adottati anche per patologie non neoplastiche, e che l’esposizione lavorativa coinvolge un rilevante numero di infermieri.

Nella prevenzione un importante ruolo è rappresentato dalla formazione del personale addetto alle varie fasi del trattamento dei farmaci antitumorali e il successo degli interventi di prevenzione è strettamente legato alla conoscenza del rischio.

In questa direzione è auspicabile, come sollecitato in numerose sedi, che nelle strutture sanitarie si proceda sia alla individuazione e alla responsabilizzazione di figure professionali specifiche sia alla attuazione di programmi mirati ad aumentare la consapevolezza dei lavoratori associata all’uso professionale di antitumorali (19, 20).

Ringraziamenti

Si ringraziano i Collegi IPASVI di Roma e di Viterbo per la collaborazione prestata nell’attuazione delle indagini.

Il presente studio è stato finanziato dai Progetti “Donna Salute Lavoro nuovi orientamenti della ricerca” (Art.12, Decreto Legislativo 502/92 ISPEL); “Modelli per la valutazione del rischio riproduttivo di sostanze ambientali” (Progetto 1128/RI, Art. 12 Decreto Legislativo 502/92 ISS).

Bibliografia

1. Auffret-Rosen N, Batteiger T. Safe handling of hazardous materials in the home setting. *Home Health Care Consultant* 1998;5(8):6-8.
2. Cloak M, Connor T, Stevens K, Theiss J, Alt J, Matney T, Anderson R. Occupational exposure of nursing personnel to antineoplastic agents. *Oncol Nurs Forum* 1985;12:33-9.
3. Black L, Presson A. Hazardous drugs. *Occup Med* 1997;12(4):669-85.
4. Valanis BG, Vollmer WM, Labuhn KT, Glass AG. Occupational exposure to antineoplastic agents and self-reported infertility among nurses and pharmacists. *J Occup Environ Med* 1997;39(6):574-80.
5. Merler E, Villa L, Lucchini R. Effetti patologici causati da chemioterapici antitumorali nei lavoratori addetti alla loro produzione, preparazione o somministrazione. *Med Lav* 1996;87(3):207-21.
6. Falck K, Grohn P, Sorsa M, Vainio H, Heinonen E, Holsti LR. Mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Lancet* 1979;1:1250-1.
7. Neal AW, Waddon RA, Chlou WL. Exposure of hospital workers to airborne antineoplastic agents. *Am J Hosp Pharm* 1983;40:597-601.
8. Kleinberg M, Quinn M. Airborne drug levels in a laminar-flow hood. *Am J Hosp Pharm* 1981;38:1301-3.

9. Apostoli P, Bartolucci G, Goffredo F, Goggi E, Minoia C, Spatari G, Villa L, Alessio L, Saia B. Sintesi delle indicazioni per una razionale applicazione delle Linee Guida Ministeriali sulla prevenzione dei rischi occupazionali nella manipolazione dei Chemioterapici Antiblastici. *Med Lav* 2001;92(2):137-48.
10. Sauer KA, Coons SJ, Berger PK. Survey of training, handling practices, and risk perceptions of Kentucky pharmacists working with antineoplastic agents. *Am J Hosp Pharm* 1991;48:119-20.
11. Perry M, Marbella A, Layde P. Association of pesticide safety knowledge with beliefs and intentions among farm pesticide applicators. *J Occup Environ Med* 2000;42(2):187-93.
12. Tucker M, Napier TL. Perceptions of risk associated with use of farm chemicals: implications for conservation initiatives. *Environ Manag* 1998;22(4):575-87.
13. Vollono C, Badoni G, Petrelli G. Percezione del rischio ed autovalutazione dell'esposizione ad antiblastici in un gruppo di infermieri e farmacisti. *G Ital Med Lav Erg* 2002;24(1):1-7.
14. Petrelli G, Vollono C, Badoni G, Rocco G, Papaleo B, Gemelli V. Studio sulla percezione del rischio da esposizione professionale ad antiblastici. *Infermieri Oggi* 2001; gennaio-marzo: 4-11.
15. Ahlborg G, Hemminki K. Reproductive effects of chemical exposures in health professions. *J Occup Environ Med* 1995;37(8):957-61.
16. McDonald AD, McDonald JC, Cherry NM, Cote R, Lavoie J, Nolin AD, Robert D. Congenital defects and work in pregnancy. *Br J Ind Med* 1988;45(9):581-8.
17. Lewis MQ, Sprince NL, Burmeister LF, Whitten PS, Torner JC, Zwerling C. Work-related injuries among Iowa farm operators: an analysis of the Iowa farm family health and hazard surveillance project. *Am J Ind Med* 1998;33:510-7.
18. Slovic P. Perception of risk. *Science* 1987;236: 280-5.
19. Catenacci G, Feltrin G. Le responsabilità (ai sensi del d.lgs "626/1994") nell'attuazione delle misure preventive per la preparazione di farmaci antifrattici. *G Ital Med Lav Erg* 2000;22(4):319-23.
20. Welch WC. Risk of using technicians and not pharmacists to handle antineoplastic drugs. *Am J Health Syst Pharm* 2000;57:1752.

LA SORVEGLIANZA SANITARIA DEGLI OPERATORI ESPOSTI A CHEMIOTERAPICI ANTIBLASTICI

Bruno Papaleo, Mariangela De Rosa, Stefano Signorini
Dipartimento di Medicina del Lavoro, ISPESL, Roma

Principi della sorveglianza sanitaria. Obiettivi e organizzazione

L'identificazione precoce, possibilmente in fase preclinica, di eventuali alterazioni dello stato di salute in operatori sanitari esposti a rischio da manipolazione di farmaci antiblastici rappresenta uno degli obiettivi della sorveglianza sanitaria, intesa come quell'insieme di periodiche procedure e indagini atte a valutare la salute dei lavoratori. Un secondo obiettivo, ma non per questo di secondaria importanza, è l'identificazione di condizioni dello stato di salute che, anche se non conseguenti all'esposizione, potrebbero rappresentare condizioni di particolare suscettibilità e, quindi, essere aggravate da specifiche condizioni lavorative. Infine la formulazione del giudizio di idoneità alla mansione specifica è l'atto conclusivo della sorveglianza sanitaria – e della valutazione del rischio – affidato per legge al medico competente (DL.vo 626/1994).

Obiettivo generale della sorveglianza sanitaria è, infine, la protezione della salute dei lavoratori, la prevenzione delle malattie professionali e delle malattie correlate al lavoro.

Presupposto fondamentale alla predisposizione di un programma di sorveglianza sanitaria, comprendente accertamenti e relativa periodicità, è la valutazione del rischio, così come definito dalle direttive comunitarie. È, quindi, indispensabile procedere alla valutazione dell'esposizione a chemioterapici che, pur non essendo ancora stati inseriti nell'elenco degli agenti cancerogeni (Allegato VIII del DL.vo 626/94), vengono generalmente trattati come tali.

Alcuni obiettivi della sorveglianza sanitaria sono:

- identificare patologie iniziali;
- identificare soggetti suscettibili;
- costituire parte integrante della valutazione del rischio;
- contribuire all'accuratezza della valutazione del rischio; verificare l'efficacia delle misure preventive.

Rispetto alle visite mediche e ai test clinici, gli strumenti attualmente a disposizione del medico del lavoro per tutelare la salute del lavoratore sono:

- l'accertamento preventivo da effettuare prima dell'assunzione (accertamento preventivo preassuntivo);
- l'accertamento preventivo da effettuare prima del cambiamento di mansione (accertamento preventivo per cambio mansione);
- l'accertamento preventivo da effettuare a cadenza definita dopo l'assunzione (accertamento preventivo periodico);
- l'accertamento di fine rapporto.

Si sottolinea che l'idoneità lavorativa è definita solamente in relazione al rischio specifico cui il lavoratore è esposto; pertanto i dati sanitari derivanti dallo studio clinico e dagli accertamenti sono finalizzati a tale scopo e devono essere trattati nel rispetto della protezione dei dati personali e della confidenzialità.

Contenuti della sorveglianza sanitaria

Il medico competente, responsabile della sorveglianza sanitaria, verifica la compatibilità tra le condizioni psico-fisiche del lavoratore e l'esposizione ai rischi derivanti dall'esplicitazione delle proprie mansioni. Tale verifica viene effettuata in occasione di visite mediche preventive, visite mediche periodiche ed eventualmente straordinarie. Nel corso di tali visite viene posta particolare attenzione a:

- condizioni suscettibili di essere attivate o aggravate dall'esposizione a specifici fattori di rischio;
- condizioni suscettibili di aumentare l'assorbimento di agenti di rischio o di ridurre l'efficacia dei meccanismi di depurazione e/o escrezione;
- condizioni suscettibili di essere confuse con patologie derivanti dall'esposizione a fattori di rischio lavorativi;
- condizioni e/o anomalie che possano limitare l'uso dei dispositivi di protezione individuale.

L'organizzazione della sorveglianza sanitaria prevede:

- visite mediche per l'accertamento dello stato di salute dei lavoratori;
- test biologici e altri accertamenti medici;
- sistemi di notifica e di registrazione dei dati;
- ricerca epidemiologica;
- sopralluoghi nei luoghi di lavoro.

Lo sviluppo delle conoscenze di tossicocinetica e tossicodinamica di molte sostanze ha reso disponibili e utili le metodiche di monitoraggio biologico con il quale è possibile valutare l'esposizione xenobiotici e la valutazione di effetti a carico di organi bersaglio.

La sorveglianza sanitaria non può assolutamente essere alternativa alle misure di prevenzione primaria sull'ambiente, ma deve essere complementare ad esse.

Il protocollo di sorveglianza sanitaria

Il programma di sorveglianza sanitaria deve prevedere, oltre la periodicità con la quale effettuare la visita medica, anche i vari accertamenti clinici, biologici e strumentali, mirati ai rischi specifici cui ciascun lavoratore è esposto. Assume, pertanto, importanza fondamentale l'esatta conoscenza dei rischi sia per la formulazione del giudizio di idoneità che per la predisposizione del protocollo sanitario. Un momento di discussione rappresenta l'inserimento di test di ipersuscettibilità individuale nel protocollo sanitario per problemi di limitazione etica.

Al momento tali test non possono essere considerati parti della pratica di monitoraggio, screening o sorveglianza in medicina del lavoro (1).

Sarà, comunque, la capacità professionale del medico competente ad orientare il protocollo sanitario a specifiche situazioni individuali in modo tale da garantire una idonea misura di prevenzione anche per i lavoratori che presentino problemi particolari.

Il giudizio di idoneità alla mansione specifica

Particolare attenzione, nel formulare il giudizio di idoneità, va posta a quelle condizioni che, presenti nella popolazione generale, potrebbero essere ulteriormente aggravate da attività lavorative che comportano esposizione a rischi, anche se “di entità molto lieve”. A tal riguardo, quindi, il giudizio di idoneità potrebbe essere condizionato anche dalla presenza di condizioni di ipersuscettibilità e/o dalla insorgenza, nel corso del tempo, di condizioni patologiche di natura extraprofessionale (2).

In ogni caso i tipi di giudizi che possono essere formulati sono:

- idoneo/a incondizionatamente;
- non idoneo/a in modo permanente o temporaneo;
- idoneo/a con prescrizione permanente o temporanea.

La funzione del medico competente è stata ampliata anche dalla recente legislazione sulla protezione della maternità: il DL.vo 645/1996 concernente il miglioramento della sicurezza e della salute sul lavoro delle lavoratrici gestanti, puerpere o in periodo di allattamento e il successivo DL.vo 151/2001 obbligano il datore di lavoro a valutare i rischi per la sicurezza e la salute delle lavoratrici. In particolare tra i rischi di esposizione ad agenti fisici, chimici o biologici, vengono identificati anche i medicinali antimitotici nei confronti dei quali occorre individuare le misure di prevenzione e protezione da adottare.

Gli effetti sulla salute dell'esposizione professionale a chemioterapici antitumorali

Il recente uso dei farmaci antitumorali non ha consentito, a tutt'oggi, di avere a disposizione sufficienti dati epidemiologici che consentano di poter definire con certezza gli eventuali effetti sulla salute.

L'aspecificità dei sintomi segnalati nei diversi lavori scientifici (nausea, cefalea, vertigini, caduta di capelli) non permette, inoltre, di stabilire con precisione un nesso di causalità tra esposizione e manifestazioni cliniche.

Altrettanto problematico è il tentativo di valutare l'entità del rischio in funzione della dose di farmaci somministrata e l'eventuale aumento di probabilità di insorgenza di patologie nei lavoratori in relazione all'entità dell'esposizione.

In carenza di informazioni derivanti da studi epidemiologici su lavoratori, quindi, si tende a fare riferimento agli effetti indesiderati che tali farmaci inducono nei pazienti sottoposti a terapia antitumorale, in virtù della riconosciuta tossicità dei farmaci stessi (3) (Tabella 1).

Tabella 1. Reazioni osservate nei pazienti sottoposti a terapia antitumorale

Effetti tossici acuti	Effetti tossici precoci	Effetti tossici ritardati	Effetti tossici tardivi
<ul style="list-style-type: none"> • Nausea • Vomito • Febbre • Lesioni ulcerative cutanee e mucose • Cistite emorragica • Insufficienza renale • Reazioni allergiche (orticaria, anafilassi, angioedema, asma bronchiale) 	<ul style="list-style-type: none"> • Leucopenia • Trombocitopenia (sepsi e sindromi emorragiche) • Alopecia • Diarrea • Stomatite • Infiltrati polmonari • Alterazioni del nervo acustico • Ipercalcemia • Danno renale • Atassia cerebellare • Psicosi 	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia • Lesioni epatocellulari • Neuropatia periferica • Ipogonadismo e diminuzione della libido • Amenorrea • Azospermia • Fibrosi polmonare • Scompenso cardiaco • Disfunzioni ormonali 	<ul style="list-style-type: none"> • Sterilità • Fibrosi epatica • Encefalopatia • Osteoporosi

Gli indicatori citogenetici

Lo studio dell'esposizione di gruppi di operatori sanitari può essere effettuato attraverso l'analisi degli effetti citogenetici in linfociti: frequenza di aberrazioni cromosomiche (AC), di micronuclei (MN), di scambi tra cromatidi fratelli (SCE: *Sister Chromatid Exchange*). Diversi autori hanno studiato la frequenza degli indicatori citogenetici in personale sanitario esposto, ma hanno fornito risultati discordanti (Tabella 2, 3, 4).

Tabella 2. Risultati degli studi sulla frequenza degli SCE in personale esposto

Risultati positivi SCE	Risultati negativi SCE	Risultati non interpretabili
Goloni-Bertollo E.M., 1992 (4)	Barale R., 1985 (10)	Norppa H., 1980 (22)
Milkovic-Kraus S., 1991 (5)	Brumen V., 1995 (11)	Sorsa M., 1988 (23)
Pohlovà H., 1986 (6)	Jordan D.K., 1986 (12)	
Sardas S., 1991 (7)	Kolmodin-Hedman B., 1983 (13)	
Thiringer G., 1991 (8)	Krepinsky A., 1990 (14)	
Waksvik H., 1981 (9)	McDiarmid M.A., 1992 (15)	
	Oestreicher U., 1990 (16)	
	Roth S., 1994 (17)	
	Sarto F., 1990 (18)	
	Stiller A., 1983 (19)	
	Stucker I., 1986 (20)	
	Thulin H., 1995 (21)	

Tabella 3. Risultati degli studi sulla frequenza degli AC in personale esposto

Risultati positivi AC	Risultati negativi AC	Risultati non interpretabili
Anwar W.A., 1994 (24)	Brumen V., 1995 (11)	Sarto F., 1990 (18)
Goloni-Bertollo E.M., 1992 (4)	Cooke J., 1991 (30)	
Harris P.E., 1992 (25)	Krepinsky A., 1990 (14)	
Milkovic-Kraus S., 1991 (5)	Roth S., 1994 (17)	
Milkovic-Kraus S., 1992 (26)	Stiller A., 1983 (19)	
Nikula E., 1984 (27)	Stucker I., 1986 (20)	
Oestreicher U., 1990 (16)	Thulin H., 1995 (21)	
Pohlovà H., 1986 (6)		
Rossener P., 1988 (28)		
Sessink P.J.m., 1994 (29)		
Waksvik H., 1981 (9)		

Tabella 4. Risultati degli studi sulla frequenza dei MN in personale esposto

Risultati positivi MN	Risultati negativi MN	Risultati non interpretabili
Anwar W.A., 1994 (24)	Roth S., 1994 (17)	Sorsa M., 1988 (23)
Harris P.E., 1992 (25)	Thiringer G., 1991 (8)	
Machado-Santelli G.M., 1994 (31)		
Rossener P., 1988 (28)		

I risultati degli studi sulla prevalenza di SCE in operatori che manipolano farmaci antiblastici sono purtroppo ancora discordanti: se da una parte è confermato un aumento di frequenza di SCE – riarrangiamenti simmetrici del DNA – in operatori esposti (4-9), d'altro canto è stato dimostrato un aumento anche in lavoratori esposti ad agenti chimici in settori industriali (32) e la loro evidente sensibilità nei confronti di fattori presenti nella vita extraprofessionale (fumo di sigaretta). Lo studio della frequenza di SCE può essere utile per la valutazione di esposizioni recenti – e di elevata intensità – in quanto la loro persistenza è di breve durata (33).

Al contrario degli SCE, le AC – indice del danno cromosomico – possono mantenersi per molti anni nei linfociti T danneggiati, e quindi possono essere rappresentative di pregresse esposizioni. La scarsa sensibilità del metodo e la presenza in lavoratori esposti a chimici industriali (34) ne rendono l'uso utile solo in determinate condizioni.

I micronuclei – indicatori indiretti di danno cromosomico – si formano al termine di una divisione cellulare in conseguenza della esclusione di un frammento o di un intero cromosoma dal nucleo principale. Mentre la metodica di indagine è più semplice, la loro sensibilità per la valutazione dei rischi genotossici è modesta. Anche per essi alcuni fattori di confondimento (età, sesso) e l'esposizione a basse dosi di agenti chimici rendono l'utilizzo limitato a determinate condizioni.

Rilevazione del farmaco e/o dei metaboliti

In condizioni normali i farmaci antiblastici non sono presenti nei liquidi biologici (ad eccezione di Pt), pertanto la rilevazione di loro tracce può essere un utile strumento da

utilizzare per la sorveglianza sanitaria. Purtroppo soltanto recentemente sono state validate metodiche per la determinazione di alcuni chemioterapici antiblastici e di loro metaboliti in alcune matrici (urina, plasma) (3). Nell'attesa, comunque, di metodi ufficiali, le ricerche in corso sono orientate allo studio dei limiti di rilevabilità, precisione e accuratezza dei principali metodi analitici in matrici biologiche. Sono disponibili, ad oggi, metodi per metotressato, isofosfamida, ciclofosfamida, composti di coordinazione del platino, alfa-fluoro-beta alanina (FBAL – metabolita del 5-fluorouracile) (3).

Addotti al DNA

Gli addotti al DNA sono prodotti di addizione tra alcune specie chimiche (alcuni xenobiotici o loro derivati metabolici) e macromolecole biologiche (DNA e proteine) e possono essere utilizzati per la valutazione dell'esposizione. La possibilità di impiego degli addotti al DNA quale strumento per la valutazione dell'esposizione professionale a chemioterapici antiblastici è tutt'ora oggetto di studio: punti critici di tale metodica sono, anche qui, la sensibilità dei metodi e la disponibilità di standard. In alcuni lavori sono stati quantificati addotti Pt-DNA in leucociti di pazienti in trattamento terapeutico (35).

La sorveglianza sanitaria

Nonostante il problema dell'eventuale inserimento dei chemioterapici antiblastici nell'Allegato VIII del DL.vo 626/1994 o della loro classificazione 1 o 2 secondo il DL.vo 66/2000 sia ancora irrisolto, è generalmente riconosciuta la necessità di considerarli e trattarli come agenti cancerogeni (vedi capitolo sulle linee guida).

Alla luce di quanto riportato e pur considerando tutti i limiti riferiti appare chiaro il ruolo indispensabile di azione preventiva che ha la sorveglianza sanitaria nei confronti di operatori esposti a chemioterapici antiblastici. I limiti descritti delle metodiche di monitoraggio biologico, relativi sia alla sensibilità che alla specificità, rendono poco attuabile il ricorso ad esse al solo scopo di formulare il giudizio di idoneità. Pertanto i test precedentemente descritti dovrebbero essere utilizzati con cautela, e comunque sempre in associazione con altre informazioni derivanti da raccolte anamnestiche mirate che vadano ad indagare i vari organi e apparati considerati a rischio ed eventuali effetti mutageni sulla riproduzione.

La sorveglianza sanitaria deve tenere conto che i farmaci antiblastici, in particolare gli agenti alchilanti, sono composti citotossici potenzialmente cancerogeni e possono causare effetti negativi sulla riproduzione in soggetti professionalmente esposti.

Sono stati inoltre descritti, in pazienti sottoposti a terapia antiblastica, effetti irritativi e allergici a carico della cute, delle mucose oculari e dell'apparato respiratorio, perdita di capelli e peli, nausea, cefalea, vertigini, epatopatie ad impronta citolitica.

Durante la sorveglianza sanitaria dovrebbero essere valutate quelle condizioni fisiologiche e/o patologiche, temporanee o permanenti, che potrebbero rappresentare situazioni di aumentata suscettibilità individuale:

- gravidanza e allattamento;
- talassemie, emoglobinopatie, carenza di G6PD eritrocitaria;
- anemie, leucopenie e piastrinopenie di ogni origine;
- immunodeficienze congenite o acquisite;

- alterazioni della funzionalità epatica o renale;
- pregressa esposizione professionale a radiazioni ionizzanti o a sostanze cancerogene;
- precedenti terapie capaci di indurre ipoplasia midollare, in particolare trattamenti con farmaci antitumorali o con radiazioni ionizzanti;
- condizione di atopia, sia perché alcuni farmaci antitumorali sono potenzialmente allergizzanti, sia per la necessità di utilizzare guanti.

Sarà, pertanto, necessario approfondire notizie anamnestiche periodicamente ed esplorare gli organi e apparati rappresentativi delle condizioni fin qui descritte: funzionalità epatica e renale, sistema emopoietico, cute, ecc.

Il monitoraggio biologico, attraverso lo studio degli indicatori citogenetici, può trovare indicazioni in situazioni particolari: eccessivo assorbimento di farmaci antitumorali per infortunio o sospetta malattia professionale.

Sulla base delle considerazioni espresse, particolare attenzione andrà posta anche a quelle situazioni che, non provocate dall'esposizione lavorativa, da questa potrebbero essere aggravate.

Bibliografia

1. Bertazzi PA, Toffoletto F, Pesatori AC. Problemi etici del monitoraggio biologico. In: Alessio L, Bertazzi PA, Forni A, Gallus G, Imbriani M (Ed.). *Il monitoraggio biologico dei lavoratori esposti a tossici industriali - Aggiornamenti in Medicina Occupazionale*. Pavia: Fondazione Salvatore Maugeri IRCCS; 2000. p. 403-13.
2. Alessio L, Farina G. Il giudizio di idoneità lavorativa specifica: atto conclusivo della sorveglianza sanitaria. *Med Lav* 2001;92(4):227-38.
3. Minoia C, Per Bellini L. *Monitoraggio ambientale e biologico dell'esposizione professionale a xenobiotici chemioterapici antitumorali*. Morgan Edizioni tecniche; 2000: Vol. 3.
4. Goloni-Bertollo EM, Tajara FH, Manzato AJ, Varella-Gracia M. Sister chromatid exchange and chromosome aberrations in lymphocytes of nurses handling antineoplastic drugs. *Int J Cancer* 1992;50:341-4.
5. Milkovic-Kraus S, Horvat D. Chromosomal abnormalities among nurses occupationally exposed to antineoplastic drugs. *Am J Ind Med* 1991;19:771-4.
6. Pohlovà H, Cernà M, Rossner P. Chromosomal aberrations, SCE and urine mutagenicity in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. *Mutat Res* 1986;174:213-7.
7. Sardas S, Gok K, Karakaya AE. Sister chromatid exchanges in lymphocytes of nurses handling antineoplastic drugs. *Toxicol Lett* 1991;55:311-5.
8. Thiringer G, Granung G, Holmen A, Hodgstedt B, Jarvholm B, Ionsson D, Persson L, Walstrom S, Westin S - Comparison of methods for the biomonitoring of nurses handling antitumor drugs. *Scand J Work Environ Health* 1991;17:133-8.
9. Waksvik D, Klepp O, Brogger A. Chromosome analysis of nurses handling cytostatic drugs. *Cancer Treat Rep* 1981;65:607-10.
10. Barale R, Sozzi G, Toniolo P, Borghi O, Reali D, Loprieno N, Della Porta G. Sister-Chromatid exchanges in lymphocytes and mutagenicity in urine of nurses handling cytostatic drugs. *Mutat Res* 1985;157:235-40.
11. Brumen V, Horvat D, Troic I. Potential genotoxic risk related to simultaneous exposure to radionuclides and cytostatics. *Am J Ind Med* 1995;27:871-6.

12. Jordan DK, Patil SR, Jochismes PR, Lachenbruch PA, Corder MP. Sister chromatid exchanges in nurses handling antineoplastic drugs. *Cancer Invest* 1986;4:101-7.
13. Kolmodin-Hedman B, Hartvig P, Sorsa M, Falck K. Occupational handling of cytostatic drugs. *Arch Toxic* 1983;54:25-33.
14. Krepinsky A, Bryant DW, Davison L, Young B, Heddle J, McRolla DR, Douglaus G, Michalico K. Comparison of three assays for genetic effects of antineoplastic drugs on cancer patients and their nurses. *Environ Mol Mutagen* 1990;15:83-92.
15. McDiarmid MA, Kolodner K, Humphrey F, Putman D, Jacobson-Kram D. Baseline and phosphoramidate mustard-induced sister-chromatid exchanges in pharmacists handling anti-cancer drugs. *Mutat Res* 1992;279:199-204.
16. Oestreicher U, Stephan G, Glatzel M. Chromosome and SCE analysis in peripheral lymphocytes of persons occupationally exposed to cytostatic drugs handled with or without use of safety covers. *Mutat Res* 1990;242:271-7.
17. Roth S, Norppa H, Jarventaus H, Kyyronen R, Ahonen M, Lehtomaki S, Sainio H, Sorsa M. Analysis of chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of pharmacists before and after working with cytostatic drugs. *Mutat Res* 1994;325:157-62.
18. Sarto F, Trevisan A, Tomanin R, Canova A, Fiorentino M. Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, and urinary thioethers in nurses handling antineoplastic drugs. *Am J Ind Med* 1990;18:689-95.
19. 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;121:253-9.
20. Stücker I, Caillard JF, Collin R, Gout M, Poyen D, Hemon D. Risque d'avortement spontané et préparation des chimiothérapies anticancerueuses chez les infirmières. *Arch Mal Prof* 1988;49:254-8.
21. Thulin H, Sundberg E, Hansson K, Cole J, Hartley-Asp B. Occupational exposure to nor-nitrogen mustard: chemical and biological monitoring. *Toxicol Ind Health* 1995;11:89-97.
22. Norppa H, Sorsa M, Vainio H, Grohn P, Heinonen E, Holsti L, Nordman E. Increased sister chromatid exchanges frequencies in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *Scand J Work Environ Health* 1980;6:299-301.
23. Sorsa M, Pyy L, Salomaa S, Nylund L, Yager JW. Biological and environmental monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in industry and hospitals. *Mutat Res* 1988;204:465-79.
24. Anwar WA, Salama SI, Serafy MM, Hemida SA, Hafer AS. Chromosomal aberrations and micronucleus frequency in nurses occupationally exposed to cytotoxic drugs. *Mutagenesis* 1994;9:315-7.
25. Harris PE, Connor TH, Stevens KR. Cytogenetic assessment of occupational exposure of nurses to antineoplastic agents. *J Occup Med Toxicol* 1992;1:243-54.
26. Milkovic-Kraus S, Kraus O, Krnjavi H, Kubelka D. Environmental effects on chromosomes in oncology and radiology department personnel. *Prev Med* 1992;21:498-502.
27. Nikula E, Kiviniitty K, Leisti J, Taskinen PS. Chromosome aberrations in lymphocytes of nurses handling cytostatic agents. *Scand J Work Environ Health* 1984;10:71-4.
28. Rossner P, Cernà M, Pokrna D, Hayek V, Petr S. Effect ascorbic acid prophylaxis on the frequency of chromosome aberrations, urine mutagenicity and nucleous test in workers occupationally exposed to cytostatic drugs. *Mutat Res* 1988;208:149-53.
29. Sessink PJM, Van De Kerkhof MCA, Anzion RBM, Noordhoek J, Bos RP. Environmental contamination and assessment of exposure to antineoplastic agents by determination of

- cyclophosphamide in urine of exposure pharmacy technicians: is skin absorption an important exposure route? *Arch Environ Health* 1994;49:165-9.
30. Cooke J, Williams J, Morgan RJ, Cooke P, Calvert RT. Use of cytogenetic methods to determine mutagenic changes in the blood of pharmacy personnel and nurses who handle cytotoxic agents. *Am J Hosp Pharm* 1991;48:1199-205.
 31. Machado-Santelli GM, Cerqueira EM, Oliveira CT, Pereira CA. Biomonitoring of nurses handling antineoplastic drugs. *Mutat Res* 1994;332:203-308.
 32. Wolff S. Difficulties in assessing the human health effects of mutagenic carcinogen by cytogenetic analyses. *Cytogenetic Cell Genet* 1982;33:7-13.
 33. Lambert B, Bredberg A, McKenzie W, Sten M. Sister chromatid exchange in human populations: the effect of smoking, drug treatment and occupational exposure. *Cytogenet Cell Genet* 1982;33:62-7.
 34. Vainio H, Sorsa M, Rantanen J, Hemminki K, Aitio A. Biological monitoring for the identification of the cancer risk of individuals exposed chemical carcinogens. *Scand J Work Environ Health* 1981;7: 241-51.
 35. Bonetti A, Apostoli P, Zaninelli M, Pavanel F, Colombatti M, Cetto GL, Franceschi T, Sperotto L, Leone R. Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy quantitation of Platinum – DNA adducts in peripheral blood leukocytes of patients receiving cisplatin- or carboplatin-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 1996;2:1829-35.

LA PREVENZIONE INDIVIDUALE E COLLETTIVA

Silvana Palmi, Francesco Draicchio, Marta Petyx
ISPESL, Dipartimento di Medicina del Lavoro

Introduzione

Le misure di prevenzione per la riduzione del rischio da esposizione a chemioterapici antiblastici hanno visto nel “Documento di linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario” (1) un importante momento di sintesi, frutto dello sforzo di un gruppo di lavoro pluridisciplinare che, promosso dall’Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro (ISPESL) e coordinato dal Prof. Lorenzo Alessio dell’Università degli Studi di Brescia, ha cercato, fin dalla sua costituzione nel 1995, di studiare e promuovere misure operative per la riduzione del rischio.

I cardini della prevenzione individuale e collettiva in tema di rischio da esposizione a chemioterapici antiblastici sono tre. Innanzitutto la centralizzazione organizzativa e strutturale che abbia dimensioni e caratteristiche adeguate alla struttura cui è destinata. Alla centralizzazione deve affiancarsi la protezione collettiva e individuale. La prima, secondo le indicazioni delle linee guida vede nella cappa a flusso laminare verticale di classe II il suo elemento fondamentale.

I dispositivi di protezione individuale proposti dalle suddette linee guida includono guanti, camici, mascherine, occhiali ecc. Tra questi particolare rilievo assumono i guanti, che rappresentano la protezione fondamentale rispetto all’assorbimento transcutaneo dell’operatore nelle fasi di preparazione e di somministrazione.

La centralizzazione organizzativa e strutturale

La centralizzazione delle strutture e delle attività proposto dal “Documento di linee guida” prevede l’istituzione di una specifica “Unità Farmaci Antitumorali” cui affidare l’intero ciclo lavorativo (preparazione, trasporto, somministrazione, smaltimento, eliminazione degli escreti contaminati, manutenzione degli impianti) con l’obiettivo di ottenere una sensibile riduzione dell’esposizione.

Il Documento indica le caratteristiche che deve possedere l’Unità Farmaci Antitumorali; essa deve essere:

- *centralizzata* (per impedire lo svolgimento senza controllo di attività a rischio);
- *isolata* (strutturalmente ben circoscritta e identificabile dal restante ambiente sanitario);
- *chiusa* (con deposito dei materiali a rischio in un unico luogo per un rapido e completo smaltimento a protezione dell’ambiente);
- *protetta* (consentendo l’accesso solo al personale autorizzato);
- *segnalata* con appositi segnali di rischio.

Inoltre il personale delle Unità Farmaci Antitumorali dovrà essere costituito da specifiche figure professionali, periodicamente formato, informato e sottoposto a programmi di sorveglianza sanitaria.

La centralizzazione era stata già suggerita tra le misure di prevenzione di altri Paesi; già nel Regno Unito la Pharmaceutical Society aveva elaborato delle linee guida nelle quali veniva proposta la centralizzazione come possibile misura di intervento per restringere il rischio in una singola area; si identificava inoltre nel Dipartimento di Farmacia il luogo più idoneo, all'interno della struttura ospedaliera, per la realizzazione di una realtà centralizzata.

Anche l'Institut National de Recherche et de Sécurité francese (INRS) aveva proposto la centralizzazione come misura di prevenzione indicata soprattutto per le strutture ospedaliere dove le preparazioni di questi farmaci sono particolarmente numerose.

Le "Work Practice Guidelines" elaborate dall'Occupational Safety and Health Administration statunitense (OSHA) avevano suggerito che tutti i farmaci antiblastici fossero preparati in un'unica area centralizzata; qualora ciò non fosse stato possibile lo stesso documento proponeva comunque che il numero di aree destinate alla preparazione di questi farmaci fosse ridotto al minimo possibile (2).

In Italia, nel 1998, le linee guida elaborate dalla Società Italiana di Farmacia Ospedaliera (SIFO) avevano introdotto il concetto di "Servizio Centralizzato" da realizzare dopo aver eseguito "un'analisi del bisogno" che comprendesse:

- la stima del numero complessivo e del tipo di preparazioni necessarie alla struttura;
- il numero e tipologia delle unità operative richiedenti;
- la stima del numero e del tipo di preparazioni necessarie a ciascun reparto;
- l'ubicazione dei reparti anche in rapporto all'ubicazione della farmacia.

Le linee guida della SIFO ipotizzavano, inoltre, una gradualità nella realizzazione di un tale Servizio, cercando di soddisfare per primi i bisogni di quelle realtà che apparivano più esposte al rischio mantenendo l'obiettivo della centralizzazione dell'intero sistema (3).

Le misure rivolte alla centralizzazione hanno trovato molti ostacoli alla loro concreta e completa realizzazione, sia per la difficoltà di centralizzare anche strutturalmente realtà spesso disomogenee, sia per la difficoltà di unificare la fase di somministrazione con quella di preparazione. Da ciò sono scaturite diverse interpretazioni: in alcuni casi si è intesa la centralizzazione esclusivamente in termini organizzativi, come momento trasversale di coordinamento delle attività connesse con la manipolazione di questi farmaci, mantenendo però le autonomie tecniche e professionali delle singole unità operative. In altri casi si è cercato di realizzare una completa centralizzazione, sia organizzativa che strutturale, con l'obiettivo di non disperdere le risorse professionali ed economiche.

In un documento elaborato dall'Associazione Italiana di Medicina Preventiva dei Lavoratori della Sanità (AIMPLS) (4) presentato in un recente Convegno Nazionale promosso dall'ISPESL (5) sono stati proposti diversi livelli di centralizzazione, lasciando la scelta alle singole realtà sulla base di valutazioni specifiche. Le principali ipotesi sono quelle di centralizzazioni di Unità Operativa, di Piano/Struttura, di Dipartimento, di Presidio Ospedaliero, di Azienda Ospedaliera, di Azienda USL. Secondo il documento ogni diversa soluzione va valutata attentamente con l'obiettivo di tendere ad una centralizzazione completa per la quale le soluzioni proposte sono da intendere anche come graduali stati di avanzamento.

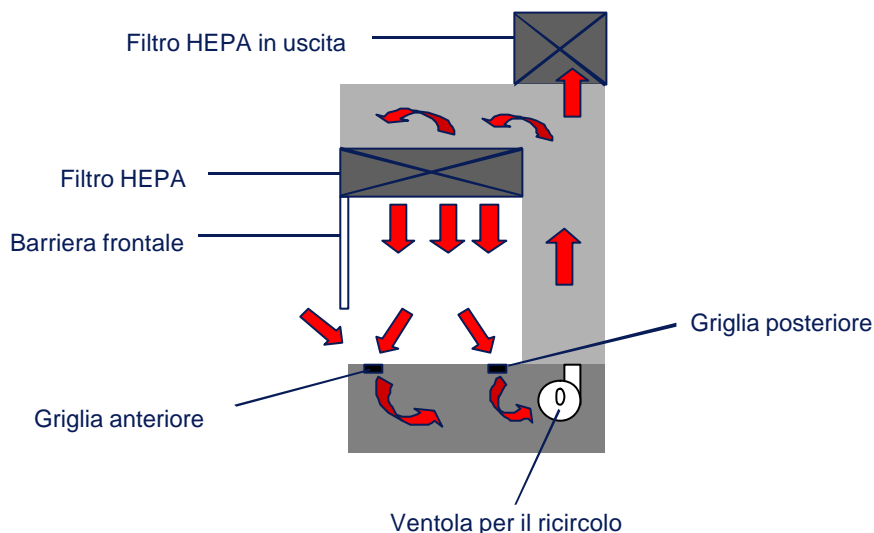
La centralizzazione non deve comunque essere intesa come semplice riduzione del numero delle sedi dove si manipolano farmaci antiblastici, ma come l'adozione di procedure di lavoro standardizzate e la programmazione di attività di formazione e informazione rivolte a tutti gli operatori coinvolti per una chiara e precisa definizione delle procedure da adottare che

comprendano tutte le fasi di gestione di questi prodotti (immagazzinamento, preparazione, trasporto, somministrazione, smaltimento).

Negli intenti del gruppo di lavoro dell'AIMPLS, infatti, gli obiettivi fondamentali del processo di centralizzazione sono la creazione e il mantenimento di condizioni di lavoro in cui siano garantite sicurezza e tutela della salute dei lavoratori, la riduzione del numero degli esposti e la razionalizzazione delle attività in senso generale (organizzativo, economico, ecc.).

La cappa a flusso laminare verticale

Le linee guida ministeriali prescrivono che la preparazione dei chemioterapici debba avvenire all'interno di cappe a flusso laminare verticale di classe II. Tali cappe sono caratterizzate da un flusso d'aria diretto dall'alto verso il basso che forma una barriera fra l'interno della cappa e l'operatore; devono, inoltre, essere dotate di appositi filtri ad alta efficienza (HEPA) e preferibilmente di un sistema di espulsione dell'aria all'esterno (Figura 1). Relativamente al loro posizionamento all'interno dell'ambiente di lavoro è fondamentale collocare la cappa lontano da fonti di calore o correnti d'aria che interferirebbero con la barriera costituita dalla lamina d'aria.



**Figura 1. Schema di una cappa a flusso laminare verticale
(le frecce indicano la direzione dell'aria)**

La scelta della cappa a flusso laminare verticale risponde a due finalità: da una parte la protezione dell'operatore e dall'altra la qualità del preparato di cui deve essere assicurata la sterilità. Tuttavia la cappa a flusso laminare verticale presenta diversi aspetti critici sia dal punto di vista dell'utilizzo che dei programmi di manutenzione.

In merito all'utilizzo, al fine di rendere efficace il sistema barriera, è necessario che l'operatore compia gesti "misurati" per non interrompere la continuità del sistema barriera. Inoltre il rispetto dei programmi di manutenzione, con particolare riferimento alla sostituzione dei filtri HEPA, rappresenta un aspetto fondamentale della protezione dei lavoratori. Sebbene le linee guida ministeriali suggeriscano l'utilizzo di sistemi caratterizzati dall'espulsione

all'esterno, molti dispositivi attualmente in uso sono "a ricircolo". È evidente che, in particolare in tali condizioni, una ridotta efficienza dei filtri comporta un progressivo incremento dei livelli di contaminazione ambientale.

Le linee guida ministeriali, inoltre, prevedevano in via transitoria l'utilizzo di cappe chimiche qualora fossero già installate in precedenza. Tuttavia anche per tali dispositivi venivano suggerite particolari caratteristiche quali, ad esempio, la presenza di un ripiano a bordi rialzati e di un filtro a carbone attivo con prefiltro meccanico sulla via di scarico, da sostituire dopo mille ore di attività. Per la cappa chimica, inoltre, veniva richiesta una velocità frontale di aspirazione di almeno 0,5 metri/s. Nelle condizioni di corretto funzionamento, la cappa chimica costituisce un buon sistema di protezione dell'operatore, ma non consente di preservare la sterilità del preparato e quindi non risponde alla necessità di assicurare elevati livelli di qualità delle preparazioni farmaceutiche in oncologia.

La scelta della cappa a flusso laminare verticale deriva in larga parte dalle indicazioni contenute nelle linee guida proposte, già a metà degli anni '80, dall'American Society of Hospital Pharmacists (ASHP) recepite successivamente in molte linee guida nazionali (6). Tuttavia non in tutti i Paesi, in particolare europei, è stato assunto tale orientamento. Spicca a tale riguardo l'orientamento assunto dalle autorità del Regno Unito che hanno proposto l'utilizzo di un diverso dispositivo: l'isolatore (Figura 2) che è caratterizzato dalla presenza di una vera e propria barriera fisica tra operatore e preparato che costituisce di certo un più sicuro sistema di protezione con tuttavia difficoltà di utilizzo e maggiori costi.

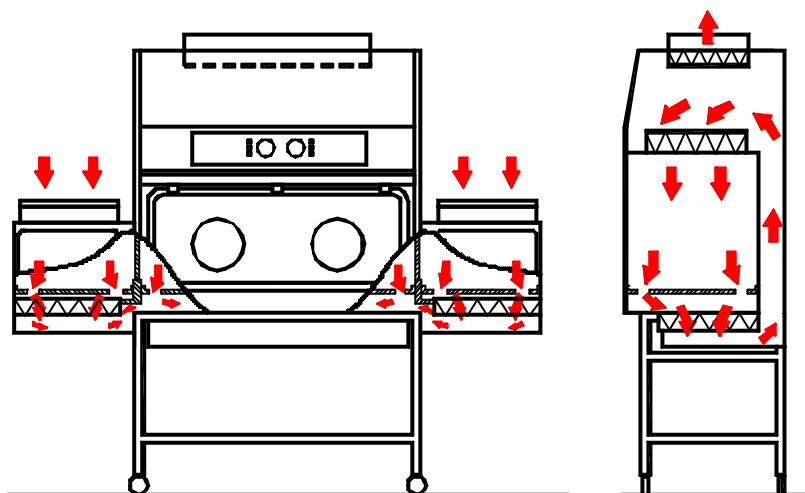


Figura 2. Isolatore: visione frontale e laterale. Le frecce indicano la direzione dell'aria
(tratta e modificata da: Neiger J. Life with UK pharmaceutical isolator guidelines.
European Journal of Parenteral Sciences 1997;2(1):13-20)

A proposito della cappa a flusso laminare verticale il recente documento del gruppo di lavoro della AIMPLS (4, 5) sottolinea l'opportunità del rigoroso rispetto dei programmi di sostituzione periodica dei filtri e dell'utilizzo di dispositivi che consentano un monitoraggio del corretto funzionamento dei filtri (contatore e sistemi di misura della velocità dell'aria).

Dispositivi di protezione individuale

La protezione individuale rappresenta l'elemento finale della sequenza di interventi a protezione dell'operatore.

Già le linee guida ministeriali specificavano che non esistono guanti capaci di garantire una assoluta impermeabilità ai diversi chemioterapici. Veniva pertanto raccomandato l'utilizzo di un *doppio paio* di guanti da sostituire al massimo dopo 30 minuti di attività. Veniva sconsigliato, inoltre, l'utilizzo di guanti contenenti polveri lubrificanti i cui residui potevano favorire l'assorbimento dei farmaci.

Il già citato Documento del gruppo di lavoro dell'AIMPLS richiama, inoltre, la necessità per i guanti della marcatura CE in ottemperanza alle norme tecniche EN374 ed EN388. In particolare le norme EN374 si riferiscono nella parte seconda e nella parte terza alla resistenza, alla penetrazione e alla permeazione. I produttori devono fornire le certificazioni relative ai test di penetrazione e permeazione e le relative classi attribuite.

Anche per i camici non esistono tessuti che assicurino una protezione assoluta, tuttavia vi sono diversi materiali che offrono livelli di protezione sufficienti considerando la funzione protettiva svolta dal camice nei confronti del possibile deposito di particelle nebulizzate. In condizioni di buona efficienza della cappa il TNT (tessuto non tessuto) assicura un buon livello di protezione.

In riferimento alle maschere le linee guida ministeriali suggeriscono quelle appartenenti alla classe di protezione FFP2S conformi alla norma europea EN149. Tuttavia appare più opportuno l'utilizzo di maschere di classe FFP3SL che assicurano una efficacia e protezione verso aerosol anche liquidi. È da considerarsi ancora valida l'indicazione contenuta nelle linee guida relativa alla non necessità di utilizzare maschere e occhiali durante il lavoro sotto cappa a flusso laminare verticale.

Per gli occhiali, ove necessari, è stato suggerito che essi siano conformi alle norme UNI-EN166 con trattamento anti-appannante e con lenti otticamente neutre.

Le cuffie monouso in TNT vanno utilizzate per la protezione dei capelli. Va invece evitato l'uso del velo in quanto non protegge l'operatore.

È stato, infine, proposto l'uso di soprascarpe monouso per il personale addetto alla preparazione e allo smaltimento al fine di evitare la diffusione della contaminazione al di fuori dell'unità centralizzata.

Prospettive per la prevenzione

I recenti sviluppi proposti dalle aziende produttrici di farmaci in tema di confezionamento e i nuovi dispositivi quali equilibratori di pressione e membrane semipermeabili ridurranno in prospettiva la liberazione dei contaminanti nelle fasi di preparazione e di somministrazione, prospettando la possibilità di una revisione delle misure protettive collettive e individuali sin qui proposte. Esiste infatti la possibilità che si giunga in tempi brevi ad operare in condizioni prossime a quelle di "ciclo chiuso". Tuttavia già oggi una dotazione adeguata dei dispositivi di protezione collettiva e individuale in un sistema centralizzato, insieme a livelli adeguati di addestramento degli operatori, offre livelli di protezione dei lavoratori che possono essere ritenuti più che adeguati.

Bibliografia

1. Italia. Provvedimento 5 agosto 1999. Documento di linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario. *Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 236, 7 ottobre 1999.
2. OSHA (Occupational Safety and Health Administration). *Controlling occupational exposure to hazardous drugs*. Washington, DC: OSHA; 1995.
3. Goffredo F. (Ed). *Terapie antitumorali. Aspetti farmaceutici dell'allestimento*. Roma: Il Pensiero Scientifico Editore; 1998.
4. Gruppo di lavoro dell'Associazione Italiana di Medicina Preventiva dei Lavoratori della Sanità. Sintesi delle indicazioni per una razionale applicazione delle Linee Guida Ministeriali sulla prevenzione dei rischi occupazionali nella manipolazione dei Chemioterapici Antitumorali. *Med Lav* 2001;92(2):137-48.
5. ISPESL, AIMPLS. Documenti di lavoro sul Convegno Nazionale “Indicazioni per l'applicazione delle Linee Guida sui chemioterapici antitumorali”. Roma, 5 dicembre 2000. ASHP technical assistance bulletin on quality assurance for pharmacy-prepared sterile products. *Am J Hosp Pharm* 1993;50(11):2386-98.

COMMENTO A LINEE GUIDA INTERNAZIONALI, NAZIONALI E NORMATIVA ITALIANA

Tiziana Paola Baccolo, Francesco Draicchio
Dipartimento di Medicina del Lavoro, ISPESL, Roma

Introduzione

L'analisi della letteratura internazionale in merito alla manipolazione di farmaci antitumorali mostra che fino a circa il 1980 non esistevano indicazioni come linee guida per la sicurezza del lavoro ma solo sporadici articoli che, riportando effetti patologici in soggetti professionalmente esposti, mettevano in guardia i lavoratori sulla necessità di avere informazioni sulla sicurezza della manipolazione di farmaci citotossici.

Un lavoro pubblicato dal danese Skov nel 1993, commentava il fatto che – a fronte dell'esistenza in Danimarca già dal 1983 di linee guida per la manipolazione di farmaci antineoplastici e in America dal 1986 – in alcuni Paesi della Comunità Europea come il Belgio, la Francia, la Grecia, il Lussemburgo, la Spagna e l'Italia, non esistevano specifiche indicazioni per il personale che utilizzava quei farmaci per motivi di lavoro, eccetto il Portogallo che nel 1990 raccomandava di incenerire i farmaci antitumorali a 1000°C (Tabella 1) (1).

Tabella 1. Paesi europei ed extraeuropei con linee guida

Stato	Anno pubblicazione delle linee guida
Australia	1981
Norvegia	1982
Danimarca	1983
Germania	1986
USA/Canada	1986
Olanda	1988
Regno Unito	1989
Irlanda	1990
Portogallo	1990
Italia	1999

Linee guida sono state proposte da molte organizzazioni di categoria, come i farmacisti, gli oncologi, gli infermieri, ecc., che le hanno poi applicate alle proprie realtà lavorative (in Australia sono state elaborate dalla Society of Hospital Pharmacists, in Olanda sono previste solo per le farmacie pubbliche e non per gli ospedali); oppure sono state pubblicate dalle amministrazioni o enti pubblici (in Norvegia dal governo, in Danimarca dal Danish Labour Inspection Service, negli Stati Uniti dall'Occupational Health and Safety Administration, nel Regno Unito dall'Health and Safety Executive), o ancora, come in Irlanda, sono state proposte da associazioni private (Irish Association for Nurses in Oncology) e raccomandate dal governo (2-6).

L'analisi delle linee guida dimostra che, pur presentando anche notevoli differenze nei diversi Paesi (come già detto in Portogallo è previsto solo l'incenerimento dei farmaci antineoplastici), come principi generali a tutela del personale vengono proposte procedure da seguire consigliando l'uso dei dispositivi di protezione ambientale (cappe a flusso laminare, ecc.) e individuale (guanti, visiere, camici, ecc.) durante la preparazione, la somministrazione, le manovre di pulizia degli sversamenti e l'eliminazione dei rifiuti. Inoltre, da quasi tutte le linee guida, viene data primaria importanza alla informazione e formazione del personale (Tabella 2) (1).

Tabella 2. Argomenti trattati nelle linee guida internazionali per la manipolazione di farmaci antitumorali

Stato	Cappe	Guanti e indumenti protettivi	Procedure per sversamenti	Procedure per rifiuti	Formazione esposti
Australia	sì	sì	sì	sì	sì
Danimarca	sì	sì	sì	sì	sì
Germania	sì	sì	sì	sì	sì
USA/Canada	sì	sì	sì	sì	sì
Olanda	sì	sì	sì	sì	sì
Regno Unito	sì	sì	sì	sì	sì
Irlanda	sì	sì	sì	sì	sì
Portogallo	-	-	-	sì	-
Italia	sì	sì	sì	sì	sì

Rispetto alla tutela della maternità in Australia, Danimarca e in Irlanda la lavoratrice gravida non può manipolare farmaci antitumorali e in Danimarca non può neppure occuparsi di pazienti che ricevono antitumorali. L'OSHA raccomanda di evitare la manipolazione di antitumorali alle gravide, alle donne che allattano e anche al personale maschile e femminile che sta tentando di concepire (Tabella 3) (1).

La sorveglianza sanitaria degli esposti è prevista dalle linee guida australiane e americane, mentre la Germania prevede la sorveglianza sanitaria di tutto il personale sanitario a contatto con i pazienti indipendentemente dall'esposizione ad antitumorali (Tabella 3).

Tabella 3. Argomenti trattati nelle linee guida internazionali per la manipolazione di farmaci antitumorali

Stato	Tutela gravidanza	Tutela allattamento	Sorveglianza sanitaria esposti
Australia	sì	-	sì
Danimarca	sì	-	-
Germania	-	-	sì
USA/Canada	sì	sì	sì
Olanda	-	-	-
Regno Unito	-	-	-
Irlanda	sì	sì	-
Portogallo	-	-	-
Italia	sì	sì	sì

In Italia la Conferenza Permanente per i rapporti tra lo Stato e le Province autonome di Trento e Bolzano ha emanato il provvedimento del 5 agosto 1999 con le linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario (7).

La consapevolezza che i farmaci antitumorali possano effettivamente provocare danni di vario tipo ed entità negli operatori che li manipolano, spesso senza una idonea informazione e formazione, ha indotto la Commissione Oncologica Nazionale a promuovere la predisposizione di linee guida per la prevenzione dei rischi lavorativi derivanti dall'uso di tali farmaci, opportunamente elaborate da qualificati esperti, in modo da consentire di realizzare documenti di riferimento per un'adeguata informazione e formazione del personale professionalmente esposto.

Nel febbraio 1995 la Commissione Oncologica Nazionale ha incaricato l'ISPEL di coordinare un gruppo di lavoro per lo studio de: "La prevenzione dei rischi lavorativi derivanti dall'uso di chemioterapici antitumorali in ambiente sanitario".

Gli esperti, di varia estrazione e riconosciuta professionalità, hanno affrontato la tematica in oggetto partendo da un esame critico delle conoscenze scientifiche esistenti.

I risultati hanno permesso di formulare raccomandazioni pratiche in tema di individuazione dell'esposizione e valutazione dei rischi, sorveglianza sanitaria degli esposti e linee guida per l'adozione di provvedimenti sia di tipo strutturale che di tipo comportamentale e organizzativo.

Per quanto riguarda la cancerogenicità il gruppo di lavoro, preliminarmente, dal confronto degli elenchi delle sostanze e dei preparati ritenuti cancerogeni e contrassegnati nelle Direttive CE dalla menzione R45 "può provocare il cancro" e dalla menzione R49 "può provocare il cancro per inalazione" nonché dell'elenco di sistemi, preparati e procedimenti che espongono ad agenti cancerogeni dell'Allegato VIII del decreto legislativo 626/94, ha potuto rilevare che numerosi chemioterapici antitumorali, frequentemente utilizzati in terapia, pur essendo riconosciuti dalla International Agency for Research on Cancer (IARC) e da altre autorevoli Agenzie come cancerogeni per l'uomo, essendo farmaci, non rientravano nel titolo VII del DL.vo 626/1994, quindi non figuravano negli elenchi contrassegnati con R45 ed R49 e pertanto, risultavano esclusi dalle disposizioni preventive e protettive previste dalla normativa.

Sulla base dei dati disponibili il gruppo di lavoro ha ritenuto di poter affermare che i chemioterapici antitumorali devono essere considerati, anche per i lavoratori professionalmente esposti, come sostanze potenzialmente cancerogene pur non essendo possibile precisarne l'entità del rischio. Tale decisione ha suggerito la necessità di promuovere, presso le Sedi competenti, gli atti necessari allo scopo di includere nelle "misure preventive" stabilite dal DL.vo 626/1994 i chemioterapici antitumorali classificati come cancerogeni dalla IARC ma non compresi negli elenchi attuali del dispositivo di legge. Peraltro, l'iter per tale istanza è già previsto nel decreto in questione che, all'art.72 "adeguamenti normativi" comma 2, stabilisce: "Con decreto dei Ministri del Lavoro e della Previdenza Sociale e della Sanità, sentita la Commissione Consultiva permanente e la Commissione Tossicologica Nazionale, è aggiornato periodicamente l'elenco delle sostanze e dei processi di cui all'Allegato VIII in funzione del progresso tecnico, dell'evoluzione di normative e specifiche internazionali e delle conoscenze nel settore degli agenti cancerogeni".

Il presidente della Commissione Tossicologica Nazionale ha attivato l'iter del quesito dell'ISPEL affidandolo alla sottocommissione Lista "Cancerogeni" al Gruppo antitumorali.

La Sottocommissione ha iniziato, in data 5 ottobre 1995, l'esame della problematica in presenza dei rappresentanti dell'ISPEL e dell'Associazione Italiana di Medicina Preventiva dei lavoratori della Sanità, esprimendo, seduta stante, il seguente parere:

Si raccomanda l'inclusione nell'Allegato VIII del Decreto Legislativo 626/94 delle attività di preparazione, impiego e smaltimento di farmaci antitumorali a fini di trattamento terapeutico.

Non tutti i chemioterapici antitumorali sono cancerogeni, e quelli cancerogeni non sono tali in eguale misura. Tuttavia, comunemente, la preparazione delle soluzioni dei diversi farmaci per i trattamenti antitumorali avviene nel medesimo ambiente e spesso il

trattamento di ogni singolo paziente comprende diversi farmaci in miscela o in sequenza. Pertanto è opportuno considerare unitariamente ogni attività intesa a fornire di trattamento antitumorale i pazienti che ne necessitano. Inoltre, l'attività comporta dei rischi di contaminazione ambientale extralavorativa, a causa delle pratiche di smaltimento dei residui.

La CCTN ritiene comunque che le attività in questione comportino rischi anche diversi da quelli cancerogeni, e in particolare di eccesso di interruzioni involontarie di gravidanza e di ipersensibilità cutanee. Inoltre, nel caso che l'ISPESL lo ritenga opportuno, la Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale è disponibile a porre le proprie expertise (in tema di tossicologia, genotossicità, cancerogenesi, epidemiologia) a disposizione del gruppo di lavoro ad hoc dell'ISPESL. Si ritiene infine che la problematica della protezione dei lavoratori esposti a chemioterapici antitumorali debba essere portata anche all'attenzione della UE.

Confortato dal parere della CCTN, l'ISPESL ha sollecitato l'intervento delle autorità istituzionali competenti al fine di promuovere il successivo iter burocratico per l'inclusione degli antiblastici non compresi nell'attuale elenco, nell'Allegato VIII del D.L.gs 626/94 chiedendo all'allora Ministro Bindi di emanare l'atto di indirizzo e coordinamento da parte del Consiglio Superiore di Sanità.

Il gruppo di lavoro ha, quindi, individuato specifiche raccomandazioni che sono state tradotte in linee guida ufficiali.

Finalmente nel 1999 è stato pubblicato come Provvedimento del 5 agosto 1999 (G.U. n. 236 del 7/10/99) il "Documento di linee guida" per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario, basato sull'assunzione che l'esposizione a farmaci antiblastici deve essere mantenuta al livello più basso possibile (7).

Dato che l'esposizione professionale a questi farmaci può coinvolgere differenti categorie di lavoratori e può verificarsi durante le diverse fasi della manipolazione le linee guida Italiane sono rivolte a tutti gli operatori e riportano i settori o le attività per le quali è possibile l'esposizione.

Il documento contiene una premessa di carattere generale e indirizzi relativi alla valutazione dell'esposizione, alla sorveglianza sanitaria considerando anche le situazioni di suscettibilità individuale, alle misure di prevenzione rispetto alle sorgenti di esposizione, all'immagazzinamento, preparazione, somministrazione, smaltimento, manutenzione delle cappe e pulizia dei locali, alle modalità operative, all'informazione e formazione del personale, utili alla prevenzione del rischio medesimo, considerata la possibile cancerogenicità dei farmaci antiblastici. Una condizione essenziale espressa è la necessità di centralizzare le strutture e le attività e l'opportunità di istituire una specifica Unità Farmaci Antitumorali, ai cui componenti affidare l'intero ciclo lavorativo.

L'Allegato 1, infine, riporta i riferimenti legislativi per la tutela della lavoratrice gestante, puerpera e in periodo di allattamento.

Per quanto riguarda, appunto, la gravidanza e l'allattamento, in Italia attualmente è in vigore il Decreto legislativo n. 151 del 26 marzo 2001, ovvero il testo unico delle disposizioni legislative in materia di tutela e sostegno della maternità e della paternità, a norma dell'art. 15 della legge 8 marzo 2000 n. 53 (8).

Secondo l'art. 7 di tale decreto, che compendia tutta la legislazione precedente in materia, è vietato adibire a lavori pericolosi, faticosi e insalubri le lavoratrici durante il periodo di gestazione e fino a 7 mesi di età del figlio. Secondo tali disposizioni legislative i lavori vietati che potrebbero esporre ai farmaci antiblastici sono: i lavori del personale ausiliario per l'assistenza ai malati negli istituti di cura pubblici e privati compresi i gabinetti di analisi cliniche e microbiologiche e i gabinetti di radiologia (DPR 20 gennaio 1976 n.432); i lavori di

assistenza e cura degli infermi nei sanatori e nei reparti di malattie infettive e per malattie nervose e mentali (DPR 25 novembre 1976 n. 1206); la lavorazione, produzione e manipolazione comportanti esposizione a prodotti farmaceutici (DL.vo 4 agosto 1999 n. 345). Nel periodo di interdizione le lavoratrici saranno addette ad altre mansioni. Il testo unico, inoltre, all'art. 11 tratta la valutazione dei rischi ai sensi del DL.vo 626/1994 e, per la valutazione mirata alla tutela della lavoratrice madre, rimanda all'Allegato C che prevede anche i "medicamenti antimitotici".

Gli antiblastici, essendo "farmaci" sono esclusi dai decreti riguardanti la classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura delle sostanze pericolose (ex Direttiva 67/548/CEE del Consiglio concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose e successive modifiche, integrazioni e attuazione) quindi non sono considerati tra gli agenti chimici ai sensi del DL.vo 2 febbraio 2002 n.25 (Attuazione della Direttiva 98/24/CE sulla protezione della salute e della sicurezza dei lavoratori contro i rischi derivanti da agenti chimici durante il lavoro) ma sono inclusi tra gli agenti cancerogeni ai sensi del DL.vo 25 febbraio 2000 n. 66 (Attuazione delle Direttive 97/42/CE e 1999/38/CE che modificano la Direttiva 90/394/CEE, in materia di protezione dei lavoratori contro i rischi derivanti da esposizione ad agenti cancerogeni o mutageni durante il lavoro), in quanto rispondono ai criteri relativi alla classificazione quali categorie cancerogene 1 o 2, ai sensi del DL.vo 3 febbraio 1997 n. 52 e 16 luglio 1998 n. 285. Inoltre in base alla valutazione del rischio ex art.4 del DL.vo 626/94, viene indicata l'applicazione delle linee guida che comprendono anche la sorveglianza sanitaria degli esposti mirata al potenziale rischio cancerogeno, agli effetti sulla riproduzione, agli effetti irritativi e allergici, agli effetti sul fegato e alle situazioni di suscettibilità individuale.

Bibliografia

1. Skov T. Handling antineoplastic drugs in the European Community countries. *Eur J Cancer Prev* 1993;2(1):43
2. Melvyn RD. Society of Hospital Pharmacists of Australia's Specialty Practice Committee on Parenteral Services – Guidelines for safety handling of cytotoxic drugs in pharmacy departments and hospital wards. *Hospital Pharmacy* 1981;16,:17-20.
3. OSHA (Occupational Safety and Health Administration). *Work practice guidelines for personnel dealing with cytotoxic (antineoplastic) drugs*. Washington, DC: OSHA, US Dept. of labor; 1986.
4. Kaijser GP, Underberg WJM, Beijnen JH. The risk of handling cytotoxic drugs. II. Recommendations for working with cytotoxic drugs. *Pharm Weekbl Sci* 1990;Dec 14;12(6):228-35.
5. Gruppo di lavoro per lo studio de: "La prevenzione dei rischi lavorativi derivanti dall'uso di chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario". *Atti Convegno Nazionale "La prevenzione dei rischi lavorativi derivanti dall'uso di chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario e gli adempimenti previsti dal DL.vo626/94"*. Roma: ISPESL; 1995. p.123-33
6. Carmignani SS, Raymond GG. Safe handling of cytotoxic drugs in the physician's office: A procedure manual model. *Oncology Nursing Forum* 1997; 24(1):41-8.
7. Provvedimento del 5 agosto 1999. Documento di linee guida per la sicurezza e la salute dei lavoratori esposti a chemioterapici antiblastici in ambiente sanitario. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 236, 7 ottobre 1999.
8. Italia. Decreto legislativo 26 marzo 2001 n.151. Testo unico delle disposizioni legislative in materia di tutela e sostegno della maternità e della paternità, a norma dell'art. 15 della legge 8 marzo 2000 n.53. S.O. n. 93/L. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 96, 26 aprile 2001.

RISORSE INFORMATIVE ONLINE SU ESPOSIZIONE DI LAVORATORI ESPOSTI AD ANTIBLASTICI E DANNI RIPRODUTTIVI

Letizia Sampaolo
Servizio Documentazione, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Alla base di ogni ricerca esauriente e obiettiva c'è senz'altro la necessità, da parte dell'autore, di condurre il proprio lavoro iniziando da un'informazione intelligente e attuale. Per chi deve apprestarsi ad una ricerca e alla conseguente esposizione del proprio studio, è, infatti, importante e necessario poter disporre di strumenti per il reperimento di eventuali dati preesistenti, adeguatamente valutati, selezionati e aggiornati.

Le fonti di informazione in formato elettronico attualmente disponibili in campo scientifico sono innumerevoli e possono essere suddivise in due grandi categorie:

- risorse informative strutturate e validate, generalmente reperibili su basi di dati commerciali consultabili on line o su supporto ottico
- risorse informative facilmente accessibili, ma per lo più esenti da controlli di qualità, disponibili sulla rete Internet.

L'informazione strutturata

Le risorse informative, o basi di dati strutturate, sono così definite perché in esse l'informazione è filtrata, selezionata e valutata accuratamente per fornire all'utente un prodotto di qualità affidabile. La tipologia di tali archivi è diversa comprendendo:

- *basi bibliografiche*
che forniscono all'utente il riferimento bibliografico rappresentato dal nome dell'autore, titolo, fonte di pubblicazione, eventuale riassunto, parole chiave;
- *banche fattuali*
che analizzano le proprietà chimico-fisiche, dati tossicologici e altri parametri relativi a composti e sostanze chimiche;
- *basi a full-text*
che contengono il testo integrale di un documento.

Nel tema oggetto del presente lavoro si possono distinguere due aspetti principali in quanto l'argomento appartiene senz'altro al settore biomedico in senso lato, ma più specificamente riguarda l'igiene del lavoro e l'esposizione professionale di particolari categorie a rischio, quali infermieri, personale medico e farmacisti ospedalieri. Di conseguenza è importante prevedere sia l'interrogazione di basi di dati biomediche, sia quelle centrate sull'igiene del lavoro e, non ultime, quelle in grado di fornire informazioni mirate a categorie professionali specifiche.

Per ognuno degli aspetti del problema esistono fonti informative appropriate. Il PubMed (Public Medline) prodotto dalla National Library of Medicine (NLM) di Bethesda (Md., USA)

è senz'altro una delle fonti più autorevoli per condurre ricerche bibliografiche online nel settore biomedico. Per interrogarla ci si avvale del thesaurus MeSH (Medical Subject Heading), un vocabolario controllato sviluppato e costantemente aggiornato da uno staff di indicizzatori preposti all'indicizzazione di ogni singolo documento contenuto nel database.

Negli ultimi anni, inoltre, il PubMed è andato via via specializzandosi offrendo subset bibliografici attraverso i quali è possibile limitare la ricerca a settori specifici come l'Infermieristica, l'Odontoiatria, la Bioetica, la Storia della Medicina e diversi altri.

Sebbene PubMed sia universalmente riconosciuta come una prestigiosa base di dati biomedica disponibile gratuitamente online, occorre tenere presente il suo orientamento preferenziale verso la letteratura di produzione statunitense.

Per questo motivo è importante affiancare nella ricerca altri archivi che prevedano anche l'indicizzazione della letteratura biomedica di origine europea, come l'Excerpta Medica, prodotta dalla Elsevier, che tra l'altro ha un sistema di classificazione della letteratura e un vocabolario controllato altamente sviluppati e fornisce l'accesso ad articoli di periodici tratti da più di 3.300 riviste scientifiche provenienti da circa 70 Paesi diversi. La consultazione di Excerpta Medica, nel caso specifico del tema trattato, diventa fondamentale anche per la possibilità che la base fornisce, di accedere ad un ulteriore pool di riviste selezionate a carattere esclusivamente farmacologico.

Il Pascal, database multidisciplinare prodotto dal CNRS/INIST (Institute de l'Information Scientifique et Technique del Centre National de la Recherche Scientifique di Vandoeuvreles-Nancy, Francia) con la sua impostazione multidisciplinare offre al ricercatore la possibilità di raggiungere citazioni bibliografiche tecnico-scientifiche e biomediche tratte dalla letteratura mondiale, in particolare quella di origine europea. Basti pensare che il 10% degli articoli indicizzati sono di provenienza russa, l'8% tedesca, il 12% francese e il resto si divide tra provenienza inglese e quella di diverse altre lingue. Con la sua consultazione si esaurisce l'approccio di impostazione biomedica generale al tema centrale di questo studio.

Ora, per ottenere una panoramica esaustiva dell'argomento, è necessario consultare basi di dati specifiche del settore dell'igiene del lavoro e dell'esposizione occupazionale. In questo caso si è deciso di interrogare l'HSEline (Health and Safety Executive on Line), prodotta dalla Health and Safety Executive britannica specializzata sulla sicurezza nell'ambiente di lavoro e su tutti gli aspetti sanitari ad essa correlati. Tale archivio è in costante aggiornamento in quanto viene periodicamente inserita la letteratura relativa a temi di ricerca emergenti in campo tecnologico e industriale.

Tra le basi di dati disponibili online e specializzate nel campo dell'infermieristica è stata selezionata la base CINHALL (Cumulative Index to Nursing and Allied Health Literature) prodotta dalla CINHALL Information Systems di Glendale (CA, USA), che indicizza la letteratura comprendente tutti gli aspetti dell'infermieristica e di discipline affini, biomedicina e tematiche strettamente connesse con il lavoro del personale sanitario.

Nel caso in cui il tema di una ricerca sia complesso e articolato in modo tale da varcare contemporaneamente i confini di diverse discipline è fondamentale procedere ad una consultazione multipla, ovvero interrogare più di un archivio anche se è inevitabile che il risultato porti con sé una sovrapposizione delle informazioni ottenute. Questo inconveniente è tuttavia compensato dalla garanzia di aver ottenuto una bibliografia ampia, mirata, priva di lacune perché ogni aspetto del problema è stato affrontato.

Per una migliore comprensione del lavoro svolto in Tabella 1 e 2 sono riportate le strategie di ricerca utilizzate per la consultazione delle basi di dati citate.

Tabella 1. Strategia di ricerca utilizzata per la consultazione di PubMed (*)

Antineoplastic agents OR methotrexate OR platinum OR ifosfamide OR cyclophosphamide OR palladium OR vincristine OR vinblastine OR mitomycin

AND

nursing OR nursing staff, hospital OR health personnel OR pharmacies OR pharmacists OR nursing care OR medical staff, hospital

AND

occupational diseases OR occupational medicine OR occupational exposure OR occupational health OR leukemia/chemically induced OR reproduction OR pregnancy OR pregnancy outcome OR pregnancy complications OR pregnancy, ectopic OR genital diseases/chemically induced OR fertility OR infertility OR protective devices

(*) L'archivio è consultabile gratuitamente all'indirizzo: <http://www.pubmed.gov>

Tabella 2. Strategia di ricerca utilizzata per la consultazione, in multifile searching, delle basi di dati HSLINE, Pascal, CINHALL, Excerpta Medica (*)

Antineoplastic agents OR antineoplastic drugs OR cytostatics OR methotrexate OR 5-fluorouracil OR 5-FU OR platinum OR isophosphamide OR cytotoxic agents OR cytotoxic drugs OR cyclophosphamide OR palladium OR chemotherapy OR chemotherapeutic agents OR chemotherapeutic drugs OR vincristine OR vinblastine OR mitomycin

AND

hospital personnel OR nursing OR nurses OR health personnel OR health manpower OR pharmacies OR pharmacists OR health occupations OR medical staff

AND

worksite OR exposure OR exposed OR risk OR monitoring OR handling

AND

occupational hazard OR abortion OR pregnancy OR pregnant OR infertility OR fertility OR fetal death OR leukaemia OR leukemia OR reproductive health OR reproduction OR reproductive hazard OR stillbirth OR miscarriage OR unborn OR protective devices OR protective gloves OR menstrual cycle OR infantile cancer OR infantile tumor OR infantile tumour OR infantile neoplasm OR newborn neoplasm OR newborn cancer OR newborn tumor OR newborn tumour

(*) Gli archivi sono stati consultati a pagamento presso gli host computer Dialog Corporation (<http://www.dialog.com>) ed EINS (<http://www2.eins.org>)

Informazioni dal Web

Le fonti informative disponibili sulla rete sono ormai difficilmente calcolabili, a vantaggio di un'informazione sempre più diffusa e capillare. Ma non sempre la diffusione di dati e notizie va di pari passo con la qualità dell'informazione, dato che tuttora non esiste un meccanismo di controllo di qualità, ufficialmente riconosciuto, in grado di valutare e selezionare le fonti alle quali si può accedere su Internet. Nonostante siano stati formulati dei codici di autoregolamentazione ai quali si deve attenere chiunque voglia divulgare notizie, studi ed elaborati, in rete c'è ancora molta confusione a riguardo e spetta al ricercatore il compito di valutare e selezionare i risultati ottenuti.

L'informazione dal Web presenta inoltre un problema non trascurabile costituito dalla volatilità dei dati. Infatti, accade spesso di non poter più rintracciare siti ritenuti interessanti ma improvvisamente irreperibili sulla rete a causa di problemi tecnici, o di affollamento, o di trasmissione, o di declinazione di responsabilità da parte del proprio autore.

Il ricercatore che si accinge a navigare su Internet sa bene, inoltre, che un'ulteriore difficoltà nella ricerca è rappresentata dall'*overload* di informazioni, dalla quantità enorme di dati e notizie che si propone a chi accede alla rete, anche attraverso motori di ricerca.

Ma l'estrema eterogeneità dei documenti presenti sul Web (dati, riferimenti bibliografici, immagini, testi integrali di leggi, regolamenti, articoli, registrazioni audio e video, elenchi di strutture pubbliche e private e relativi servizi e molti altri) fa sì che sia possibile raggiungere documenti altrimenti introvabili sulle basi di dati bibliografiche.

Nel nostro caso, si è reso necessario reperire il testo completo di linee guida europee mirate alla manipolazione di farmaci chemioterapici antitumorali in popolazioni ospedaliere professionalmente esposte. PubMed offre la possibilità di selezionare, tra le citazioni bibliografiche reperite, quelle relative alle *guidelines*. Queste, così come le linee guida riportate sul sito della NLM, sono di matrice USA e rispecchiano l'orientamento statunitense; costituiscono senz'altro un punto di riferimento ma non possono considerarsi esaustive perché mancanti di tutta la panoramica europea del settore. La consultazione di Internet attraverso più motori di ricerca ha consentito di colmare questa lacuna.

Conclusioni

A conclusione di un'indagine bibliografica, l'obiettivo di ogni ricercatore è quello di avere la certezza di non aver tralasciato niente che potesse essere indispensabile ai fini del suo studio. In tale ottica, è importante sottolineare che nessun archivio, per quanto ampio e prestigioso, può essere considerato esauriente. Infatti, per ottenere un'informazione che risponda ai classici requisiti di chiarezza, pertinenza, attendibilità, esaustività, è necessario avvalersi di un insieme di fonti informative che, integrandosi a vicenda, danno la garanzia di una ricerca completa sotto tutti i punti di vista.

Può accadere che il ricercatore non sia in grado di predisporre autonomamente una strategia di ricerca complessa che presuppone la conoscenza dei singoli archivi e dei loro meccanismi di interrogazione né abbia la possibilità di accedere a più basi di dati commerciali, per le quali è prevista la consultazione a pagamento, previo contratto d'accesso. Una ricerca su PubMed e su Internet può costituire un punto di partenza buono ma non sufficiente, anche considerando che l'informazione reperita in rete deve essere sempre selezionata e valutata. Per il resto e, ove necessario, si consiglia di completare la bibliografia precedentemente ottenuta richiedendo l'aiuto di specialisti dell'informazione che dispongono di risorse informative selezionate distribuite commercialmente da diverse organizzazioni internazionali.

*Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità
e Direttore responsabile: Enrico Garaci*

*Coordinamento redazionale:
Paola De Castro e Sandra Salinetti*

*Stampato dal Servizio per le Attività Editoriali
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Roma, giugno 2002 (n. 2) 3° Suppl.

*La responsabilità dei dati scientifici e tecnici
pubblicati nei Rapporti e Congressi ISTISAN è dei singoli autori*

[Chi è GioFil](#)

[Iscrizione](#)

[Email](#)

[Archivi](#)

Banca Dati Sanitaria Farmaceutica

- [MEDICI](#)
- [FARMACISTI](#)
- [CLIENTI](#)
- [ACCESSO LIBERO](#)



GioFil.TV e TG Sanità

- [PRESENTAZIONE](#)
- [ACCESSO TG SANITÀ](#)
- [ACCESSO GioFil TV](#)



ECM-Formazione a distanza

- [PRESENTAZIONE](#)
- [ACCESSO DIRETTO](#)



GioFil-Altri progetti

- [EnDiaMet-Lazio](#)
- [Federfarma Abruzzo](#)
- [Federfarma Molise](#)
- [A.O.O.I.](#)



[Il Mio Sito](#)