ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE

Workshop sobre Mecanismos de Carcinogenicidade das Fibras e Avaliação de Substitutos para o Amianto Crisotila

Lyon, 8-12 de novembro de 2005

Organização Mundial da Saúde

Workshop sobre Mecanismos de Carcinogenicidade das Fibras e Avaliação de Substitutos para o Amianto Crisotila

Lyon, 8-12 de novembro de 2005

RELAÇÃO DE PARTICIPANTES

Membros1

Elke Dopp

Hospital Universitário Essen

Instituto de Higiene e Medicina Ocupacional

Hufelandstrasse 55 D-45122 Essen Alemanha

Tel: 49-201-723.4578 Fax: 49-201-723.4546 elke.dopp@uni-essen.de

Bice Fubini

Universidade de Torino

Centro Interdepartmental 'G. Scansetti' para Estudos sobre Amianto e outros Particulados Tóxicos

Via P. Giuria 7 I-10125 Torino

Itália

Tel: 39-011-6707566 Fax: 39-011-6707855 bice.fubini@unito.it

Andrea Hartwig

Technische Universität Berlin

Fak.III – Institut fur Lebensmitteltechnologie

und Lebensmittelchemie

Sekr.:TIB 4/3-1

Gustav-Meyer-Allee 25

D-13355 Berlin Alemanha

Tel: 49-30-314.72789 or 72701 (secr.)

Fax: 49-30-314.72823

andrea.hartwing@tu-berlin.de

F. Javier Huertas

CSIC, Estacion Experimental del Zaidin Departamento de Ciência da Terra e

Química Ambiental Prof. Albareda 1 E-18008 Granada

Espanha

Tel: 34-958-181.000, ramal 226

Fax: 34-958-129.600

Javier.Huertas@eez.csic.es

Marie-Claude Jaurand

Instituto Nacional da Saúde e Pesquisa

Médica (INSERM)

Genômica funcional de tumores sólidos

U674 – IFR 105 – CEPH – IUH

27, rue Juliette Dodu

F-75010 Paris

França

Tel: 33-1-53.72.51.88

Fax: 33-1-53.72.51.92

jaurand@im3.inserm.fr

Aparna M. Koppikar

Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

Centro Nacional para Avaliação Ambiental

1200 Pennsylvania Ave, N.W. Washington, D.C. 20460

EUA

Tel: 1-202-564-3242

Fax: 1-202-565-0076

koppikar.aparna@epa.gov

Dr Yasuo Morimoto

Departamento de Pneumologia Ocupacional Universidade de Saúde Ambiental & Ocupacional

1-1 Iseigaoka, Yahatanishiku Kitakyushu City 807-8555

Japão

Tel: 81-93-691.71.36 Fax: 81-93-691.42.84

yasuom@med.uoeh-u.ac.ip

¹ Os membros dos grupos de trabalho e especialistas convidados estão presentes como indivíduos e como cientistas e não como representantes de seu governo ou de qualquer organização da qual fazem parte. Indicamos a filiação de cada participante apenas para fins de identificação.

Paul A. Schulte

Instituto Nacional de Saúde e Segurança Ocupacional

(NIOSH)/CDC

Robert A. Taft Laboratories 4676 Columbia Parkway Cincinnati OH 45226-1998

EUA

Tel: 1-513-533.8498 Fax: 1-513-533.8588 pas4@cdc.gov

Leslie Stayner

Universidade de Illinois em Chicago Faculdade de Saúde Pública (M/C 923) 1603 West Taylor Street, Room 971

Chicago, IL 60612

EUA

Tel: 1-312-355.3692 Fax: 1-312-996.0064 lstayner@uic.edu

Peter Wardenbach

Instituto Federal para Segurança e Saúde Ocupacional

(BAuA)

Friedrich-Henkel-Weg 1-25

D-44149 Dortmund

Alemanha

Tel: 49-231-9071.2585 Fax: 49-231-9071.2611

Wardenbach.Peter@baua.bund.de

Especialistas convidados²

Suresh Moolgavkar³

Centro de Pesquisa de Câncer Fred Hutchinson Divisão de Ciências da Saúde Pública ??00 Fairview Avenue North, M2-B500 PO Box 19024

Seattle, Washington DC 98109-1024

EUA

Tel: 1-206-667.4145 Fax: 1-206-667.7004 smoolgav@fhcrc.org

² OBSERVAÇÃO: Esta lista não inclui empresas ou instituições pequenas. Exemplos de empresas ou instituições pequenas incluem aquelas cujo valor total em ações não supera US\$10.000 no total, subvenções de pesquisa que alocam apenas 5% do orçamento para pesquisa, serviços de consultoria ou conferências, sobre assuntos não relacionados a tribunais ou agências governamentais, que não superam 2% do tempo ou compensação. Todos os serviços de consultoria e de conferência a respeito de assuntos relacionados a tribunais ou a agências governamentais estão relacionados como sendo significativos.
³ Encontra-se prestando serviço de consultoria para um escritório de advocacia que representa uma corporação cujos negócios incluem o amianto.

Hartwig Muhle⁴

Instituto Fraunhofer de Toxicologia e Medicina

Experimental

Nikolai-Fuchs-Strasse 1 D-30625 Hannover

Alemanha

Tel: 49-511-5350.451 Fax: 49-511-5350.155 muhle@item.fraunhofer.de

Jay Turim⁵

Sciences International Inc.

King Street Station

1800 Diagonal Road, Suite 500

Alexandria, VA 22314

EUA

Tel: 1-703-684.0123 Fax: 1-703-684.2223 iturim@sciences.com

Observadores

Observador para a American Forest & Paper Association,

Inc. (AFPA)
David Bernstein⁶

40, chemin de la Petite-Boissière

CH-1208 Genebra

Suíça

Tel: 41-22-735.00.43 Fax: 41-22-735.14.63 davidb@itox.ch

Observador para a European Ceramic Fibres Industry

Association (ECFIA) R.C. R.C. Brown⁷ 6, Stocken Hall Mews GB-Stretton LE15 7RL Reino Unido

Tel: 44-1780.410368 Fax: 44-870.0519781

RB@toxservices.demon.co.uk

⁴ O Instituto Fraunhofer realiza pesquisas para várias empresas que produzem lã de vidro, lã de rocha ou fibras cerâmicas.

⁵ Encontra-se prestando serviço de consultoria para um escritório de advocacia que representa uma corporação cujos negócios incluem o amianto. Recebeu subvenção para pesquisa da Refractory Ceramic Fibers Coalition, uma associação de fabricantes de fibras cerâmicas refratárias.

⁶ Consultor para a American Forest and Paper Industry. Recebeu subvenção para pesquisa da indústria do amianto crisofilo

⁷ Consultor para a ECFIA. Parceiro detém ações na Morgan Crucible Company, fabricante de fibras cerâmicas.

Observador para Saúde Canadá, Governo do Canadá

Michel Camus

Universidade de Montreal 3875, Rue Saint-Urbain Montréal, Québec H2W 1V1

Canadá

Tel: 1-514-890.8000, ramal 15909

Fax: 1-514-412.7106

michel.camus@umontreal.ca

Observador para o Instituto Nacional de Defesa da

Propriedade, Brasil Carlos Crespo Avenida 18 No 149 Rio Claro, São Paulo

Brasil

Tel: 55-19-3534.0883 Fax: 55-19-3534.0883 idpn@idpn.org.br

Observador para a NYCO Minerals Inc.

Christophe de Bellefroid⁸ **NYCO Minerals Inc.** 45, av. de Citeaux **B-1348** Louvain-la-Nueve

Bélgica

Tel: 32-10.88.13.02 Fax: 32-10.22.65.99

christophe.debellefroid@nycominerals.com

Observador para o Ministério da Saúde da Bélgica

Frédéric Denauw

Direction générale environnement -

Maîtrise des risques Place Victor Horta 40

Boîte 10 B **B-1060 Bruxelas** Bélgica

Tel: 32-2-524.95.92 ou 32-478.24.13.31

Fax: 32-2-524.96.03

frederic.denauw@health.fgov.be

Observador para o Programa US EPA IRIS

Danielle DeVonev

Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos Centro Nacional para Avaliação Ambiental

1200 Pennsylvania Avenue, NW 8601D

Washington DC 20460 **EUA**

Tel: 1-202-564.3352 Fax: 1-202-565.0075

devoney.Danielle@epa.gov

Observador para Sama Mineração de Amianto Ltda

Milton do Nascimento⁹

Sama Mineração de Amianto Ltda

Rua Dr Fernandes Coelho

 $85~2^{\circ}$ andar

São Paulo 05404-014

Brasil

Tel: 55-11-3817 1707 Fax: 55-11-3097.9006 mnascimento@sama.com.br

Observador para o Chrysotile Institute

Jacques Dunnigan¹⁰

380 Chemin de North-Hatley

PO Box 123

Ste-Catherine-de-Hatley, QC, J0B 1W0

Canadá

Tel: 1-819-847.3177 Fax: 1-819-847.1931 jacdun@cgocable.ca

Observador para l'Agence Française de Sécutité sanitaire

de l'environnement et du travail

(AFSSET)

Anne-Marie Fillet

AFSSET

27-31 Avenue du Général Leclerc

F-94704 Maisons Alfort

Franca

Tel: 33-1-56.29.18.83 Fax: 33-1-56.29.56.41 anne-marie.fillet@afsset.fr

Observador para International Ban Asbestos (IBAS)

Morris Greenberg¹¹ 14, North End Road **GB-London NW11 7SY**

Reino Unido

Tel: 44-20-8458.2376

mgreenberg@toucansurf.com

Observador para a the North American Insulation

Manufacturers Association (NAIMA)

John Hadlev¹²

Centro para Ciência e Tecnologia Owens Corning

Granville, Ohio

EUA

Tel: 1-740-321.7228 Fax: 1-740-321.4228

john.Hadley@owenscoming.com

⁸ Funcionário da NYCO Minerals, fabricante de wolastonita.

⁹ Funcionário da Sama Mineração de Amianto, produtor de amianto.

¹⁰ Consultor para a indústria do crisotila.

¹¹ Trabalhou como consultor para autores de ação de compensação por danos causados por doenças relacionada ao amianto ou fibras minerais. Talvez receba subvenção do IBAS para estar presente nesta reunião.

¹² Funcionário da Owens Corning, produtor de fibras de vidro.

Observador para a Swiss Agency for Environment, Forests 14, avenue Duquesne

and Landscape Bettina Hitzfeld

Nomeada como Autoridade Nacional da Convenção

de Roterdã

Swiss Agency for the Environment, Forests and

Landscape SAEFL

Divisão de Substâncias, Solo e Biotecnologia

CH-3003 Berna

Suíça

Tel: 41-31-32.317.68 Fax: 41-31-32.479.78 picdna@buwal.admin.ch

Observador para Future Pipe Industries Llc.

Mustafa Kabbara¹³ Future Pipe Company

PO Box 1371 Dubai

Emirados Árabes Unidos Tel: 971-4-210.1515 Fax: 971-4-210.1259

m.kabbara@future-pipe.com

Observador para o Instituto de Pesquisa sobre Saúde Ocupacional da Academia Russa de Ciências Médicas

Evgeny Kovalevskiy

Organização Estatal Instituto de Pesquisa sobre Saúde

Ocupacional

Academia Russa de Ciências Médicas

Centro Colaborador da OMS na área de Saúde

Ocupacional

31, Prospect Budennogo

105275 Moscou Federação Russa Tel: 7-095-102.10.73 Fax: 7-095-366.05.83 3933.g23@g23.relcom.ru

Observador para o Registro Russo de Produtos Químicos

Potencialmente Perigosos Boris Kurlyandskiy 18/20, Vadkovskiy per 127994 Moscou Federação Russa Tel: 7-095-9732657 Fax: 7-095-9732657 root@regchem.msk.ru

Observador para o Ministério da Saúde da França

Claude Lambré Ministério da Saúde

DGS/CAS

¹³ Funcionário da Future Pipe Company, fabricante de tubos de fibrocimento.

14, avenue Duquesne F-75350 Paris SP07

França

Tel: 33-1-40.56.79.29 Fax: 33-1-40.56.46.26

claude.lambre@sante.gouv.fr

Observador para o Secretariado da Convenção de Roterdã

Sheila Logan

Secretariado da Convenção de Rotterdam Programa Ambiental das Nações Unidas

11-13 Chemin des Anemones

Chatelaine 1219 Genebra Suíca

Tel: 41-22-91.78.511 Fax: 41-22-797.3460 slogan@pic.int

Observador para a Refractory Ceramic Fibers Coalition

(RCFC)

Daniel Maxim¹⁴ 15 N. Main Street Cranbury, NJ 08512

EUA

Tel: 1-609-655.7426 Fax: 1-609-655.5637 postsf@aol.com

Observador para a European Tissue Symposium (ETS) e para a Confederação Européia da Indústria Papeleira

(CEPI)

Anthony S. Panepinto
Procter and Gamble
5299 Spring Grove Avenue
Cincinnati, OH 45217

EUA

Tel: 1-513-627.4936 Fax: 1-513-627.4257 panepinto.as@pg.com

Observador para o Ministério para Assuntos Econômicos e

Trabalho e Inspeção do Trabalho, da Áustria

Reinhil Pürgy

Ministério para Assuntos Econômicos e Trabalho

Favoritenstrasse 7 A-1040 Wien Áustria

Tel: 43-1-71100.2320 Fax: 43-1-7110093.0304 reinhild.puergy@bmwa.gv.at

¹⁴ Funcionário da Everest Consultant, Inc. Consultor para RCFC, ECFIA, NAIMA, e NYCO Minerals.

Observador para o Ministério para Assuntos Sociais e

Saúde da Finlândia

Antti Tossavainen

Instituto Finlandês de Saúde Ocupacional

Topeliuksenkatu 41 SF-00250 Helsinki

Finlândia

Tel: 358-304742233 Fax: 358-304742208 antti.tossavainen@ttl.fi

Observador para a Federação Internacional de

Trabalhadores da Construção e Madeira

Lars Vedsmand BAT-Kartellet Kampmannsgade 4 DK-1790 Copenhagen V Dinamarca

Tel: 45-88.92.11.09

Fax: 45-88.92.11.29

lars.vedsmand@batkartellet.dk

Observador para l'Agence Française de Sécutité Sanitaire

de l'environnement et du travail

(AFSSET)
Antoine Villa
AFSSET

27-31 Avenue du Général Leclerc

F-94704 Maisons Alfort

França

Tel: 33-1-56.29.56.30 Fax: 33-1-56.29.56.41 antoine.villa@afsset.fr

Secretaria da OMS

Antero Aitio Robert Baan Vincent Cogliano Fatiha El Ghissassi Yann Grosse Béatrice Secretan Kurt Straif Carolyn Vickers

Assistentes Administrativos

Sandrine Egraz

Helene Lorenzen-Augros

Algumas das fibras estudadas neste encontro foram avaliadas por outros grupos de trabalho reunidos pelo Programa de Monografias da IARC. Neste artigo reproduzimos os resumos das Monografias pertinentes da IARC (Vol. 68, 1997; Vol. 81, 2002) sobre câncer em seres humanos e acrescentamos estudos complementares publicados após a divulgação da última Monografia.

O Grupo de Trabalho também analisou as Monografias da IARC sobre exposição na indústria têxtil (Vol. 48) e poeira de madeira (Vol. 62), mas concluiu que os estudos sobre câncer em seres humanos relatados nestas monografias não contribuem para a avaliação da carcinogenicidade das fibras aqui tratadas.

Fibra de Celulose

Band *et al.* (1997) realizaram um estudo de coorte de mortalidade, com 30.157 homens que tinham trabalhado por pelo menos 1 ano em 14 fábricas de papel e celulose na British Columbia (1950-1992). As taxas padronizadas de mortalidade foram calculadas e comparadas com as taxas de mortalidade populacional do Canadá. Das 4.047 mortes, 1.052 foram por câncer. Foram encontrados excessos estatisticamente significativos (ES) para câncer do pulmão (TPM=1,32), e outros sítios, como pâncreas, cérebro, fígado, laringe, melanoma de pele, doença de Hodgkin e múltiplos mielomas nos empregados que trabalharam no processo sulfite, e para câncer dos rins nos empregados que trabalharam no processo kraft, com ≥15 anos de trabalho. Para os empregados em ambos os processos, excessos ES só foram observados para o linfoma não-Hodgkin. Um aumento na mortalidade para câncer de pleura foi observado na coorte total (n=8, TPM=2,65, IC 90% = 1,32 e 4,78). Dos 8 casos de câncer de pleura, 5 (Taxa Padronizada de Mortalidade = 3,61, IC 90% = 1,42 e 7,58) ocorreram em empregados que tinham ≥ 15 anos de tempo de serviço. Os pesquisadores usaram intervalos de confiança de 90%. O tempo de trabalho foi usado como substituto para exposição. Não foram fornecidas informações específicas sobre exposição a fibras, outros produtos químicos ou fumo.

Band et al. (2001) realizaram um estudo de incidência de câncer em empregados homens de 14 fábricas de papel e celulose na British Columbia (1950-1992). Para calcular as taxas de incidência padronizadas (TIPs), a incidência de câncer da coorte foi comparada com as taxas de câncer da população do Canadá. Um total de 1.756 casos foram observados em 28.278 empregados com pelo menos 1 ano de trabalho. Um ponto de corte de 15 anos de latência foi escolhido, porque a distribuição de pessoa por ano e a distribuição de casos eram iguais para empregados que tinham ≥ 15 anos e < 15 anos desde o primeiro emprego. Houve um aumento significativo das TIPs para melanoma de pele e câncer de próstata entre empregados que trabalham no processo kraft; para câncer de fígado, pâncreas, e pulmão (TIP = 1,32) entre empregados que trabalham no processo sulfite; e melanoma de pele e câncer de próstata entre empregados que trabalham nestes dois processos. Foram relatados dez casos de câncer de pleura (TIP=2,05) nesta população. A TIP para mesotelioma foi ES quando todos os empregados foram estudados conjuntamente, e não em grupos separados por tipo de processo. Os autores afirmam que os casos de mesotelioma foram provavelmente resultado de exposições anteriores ao amianto. O tempo de serviço foi utilizado como substituto para exposição. Não se sabe até que ponto a coorte esteve exposta às fibras de celulose e se também houve exposições a outros produtos químicos que pudessem servir como fator de confusão. Não havia informação disponível sobre tabagismo.

Em uma coorte de 63.025 trabalhadores com 10 anos ou mais de trabalho em 51 fábricas de papel e celulose, Metanoski *et al.* (1998) descobriram que tanto a taxa de mortalidade total quanto a taxa de mortalidade por câncer eram baixas. Os investigadores coletaram os dados referentes ao contrato de trabalho dos funcionários atuais, e prepararam um dicionário do trabalho, contendo os nomes dos cargos, tarefas, áreas de trabalho e de subtrabalho com base nas várias etapas do processo de fabricação de papel. As seis áreas incluídas para a alocação dos empregados e para análise foram: produção de celulose, fabricação de papel, acabamento, energia/recuperação, serviços em geral, e outros. Foram descritos os processos de fabricação de celulose e as mudanças ocorridas ao longo dos anos. As TPMs foram calculadas através das taxas de mortalidade populacionais para os Estados Unidos e taxas específicas de 20 regiões onde as fábricas de papel estavam localizadas. Um excesso em termos de TPM para câncer de pulmão (1,35, ICs 95% = 1,04 e 1,75) foi observado entre empregados que trabalhavam no processo sulfato (ou kraft). Foram feitos ajustes para idade e época do ano. Não havia informação disponível sobre exposições específicas, tais como fibras e tabagismo. Os autores confirmam a presença de vários outros produtos químicos.

Em estudo realizado em uma fábrica de papel na Dinamarca, com 14.362 empregados ativos em qualquer época do período de seguimento, entre 1943 e 1993, não se observou nenhum excesso de incidência de câncer de pulmão (Rix *et al.*, 1998). As taxas de incidência de câncer para a população da Dinamarca foram usadas para calcular as TIPs. TPMs aumentadas de forma estatisticamente significativas foram observadas para doença de Hodgkin, câncer de faringe e sarcomas de tecido mole. Nenhuma informação específica sobre exposição a fibras foi fornecida.

Aramida e para-aramida

Sem dados

Wollastonita

No único estudo disponível de mortalidade com uma coorte pequena de empregados em uma pedreira de wolastonita, o número de mortes constatadas para todos os tipos de câncer juntos e para câncer de pulmão foi mais baixo do que o previsto. No retroperitônio de uma senhora com 73 anos de idade, observou-se um raro caso de tumor mesenquimal maligno com características semelhantes a um mesotelioma. Placas pleurais foram detectadas em 9 (18%) empregados e 4 dentre eles não tinham qualquer indicação de exposição ao amianto.

Atapulgita

Apenas um estudo de coorte de mineradores e processadores de paligorsquita (atapulgita) encontra-se disponível. O estudo demonstrou pequenos excessos de mortalidade por câncer de pulmão e de estômago, mas não há indicação de qualquer resposta relacionada à exposição para qualquer destes dois tipos de câncer.

Introdução Geral: lã de vidro, fibra de vidro de filamento contínuo e lã mineral de rocha (basalto)/lã de escória durante o processo de fabricação

Dois grandes estudos de coorte e de caso-controle aninhados nestas coortes dos EUA e Europa fornecem a maioria das evidências epidemiológicas a respeito do risco potencial para câncer das vias respiratórias e outros tipos de câncer associados com a exposição ocupacional à lã de vidro, fibra de vidro de filamento contínuo e lã mineral de rocha (basalto) /lã de escória durante o processo de fabricação. O estudo de coorte dos EUA incluiu 16 fábricas e ampliou o seguimento até 1992. Também foi ampliado um estudo anterior de forma a incluir mulheres e empregados não caucasianos. O estudo incluiu informação sobre tabagismo e uma nova avaliação de exposição histórica no local de trabalho a fibras respiráveis e várias fontes de co-exposição incluindo amianto, formaldeído e sílica. A coorte européia ampliou o seguimento até 1990, em 13 fábricas.

Lã de vidro

As descobertas do estudo de coorte nos EUA mostraram, com o uso de taxas locais, que não houve nenhuma evidência de excesso de mortalidade considerando todas as causas e todos os tipos de câncer combinados. Viu-se uma diferença estatisticamente significativa de 6% de excesso na mortalidade por câncer das vias respiratórias (principalmente da traquéia, brônquio e pulmão). Quando a análise se restringiu a trabalhadores de longo prazo, o excesso foi reduzido e deixou de ser estatisticamente significativo. O ajuste para tabagismo, baseado em uma amostra aleatória de trabalhadores, sugere que o fumo pode ser responsável pelos excessos de casos de câncer das vias respiratórias observados na coorte masculina que trabalha com fibra de vidro (lã de vidro e fibra de vidro de filamento contínuo juntos). As taxas de mortalidade padronizadas para o câncer das vias respiratórias não se relacionaram nem à duração do tempo de trabalho, entre a coorte total ou entre os trabalhadores de longo prazo, nem ao tempo de exposição, exposição cumulativa ou intensidade média de exposição à fibra de vidro respirável (lã de vidro e fibra de vidro de filamento vidro contínuo combinadas). A análise por grupo de produtos apresentou um excesso estatisticamente significativo para o câncer das vias respiratórias em todos os funcionários de fábricas agrupadas como associadas a atividades que envolvem principalmente a lã de vidro. Entretanto, este risco de excesso para estas empresas que trabalham com este grupo de produtos foi reduzido e deixou de ser estatisticamente significativo quando a coorte se limitou a trabalhadores de longo prazo (≥ 5 anos de trabalho). Não foram encontradas evidências de excesso de mesotelioma ou de câncer não-associados às vias respiratórias. O estudo caso-controle de câncer das vias respiratórias aninhado em uma coorte dos EUA possibilitou o controle da co-exposição em fábrica e um controle mais detalhado, que evitou o fator de confusão representado pelo tabagismo. Não houve uma associação entre o tempo de exposição, uma exposição cumulativa, intensidade média da exposição e o tempo desde a primeira exposição à fibra de vidro respirável e um risco aumentado para câncer das vias aéreas. Estes resultados não foram alterados pelas diferentes caracterizações de exposição às várias categorias de fibras respiráveis ou por modelos alternativos para dados de exposição contínua.

O estudo europeu da coorte de trabalhadores no setor de lã de vidro demonstrou mortalidade aumentada por câncer de pulmão (traquéia, brônquio e pulmão) mas nenhuma tendência em relação ao tempo desde a contratação do empregado ou duração do contrato de trabalho. Nesta coorte ocorreu uma morte por mesotelioma. A exposição à fibra não foi avaliada neste estudo, mas foram usadas medidas substitutivas, como, por exemplo, o "estágio tecnológico na época da contratação". Não havia informação disponível sobre co-exposições ou hábitos de tabagismo.

Fibra de vidro de filamento contínuo

Duas das fábricas incluídas no estudo de coorte dos EUA fabricavam apenas fibra de vidro de filamento contínuo. Quando os dados para todos os trabalhadores e para empregados com maior tempo de trabalho nestas duas fábricas foram comparados com taxas de mortalidade regionais, não se encontrou nenhuma evidência de excesso de mortalidade por causa de câncer das vias respiratórias. O ajuste para o tabagismo teve pouco efeito sobre a razão de mortalidade padronizada para câncer das vias aéreas. Um estudo de casocontrole aninhado, que incluiu ajustes para o tabagismo e co-exposições também não forneceu evidências consistentes de excesso de mortalidade por câncer das vias aéreas. A análise da exposição-resposta que combinou exposição à fibra de vidro de filamento contínuo e lã de vidro, está incluída na parte sobre lã de vidro.

O estudo de coorte europeu forneceu poucos dados para a avaliação de risco de câncer entre empregados expostos à fibra de vidro de filamento contínuo. Este estudo não apresentou nenhuma evidência convincente de risco elevado para câncer de pulmão.

Também obtivemos resultados de dois estudos de coorte menores, realizados nos EUA e Canadá. O estudo de coorte dos EUA sobre uma fábrica de fibra de vidro de filamento contínuo, que incluiu um estudo de casocontrole aninhado, com informação sobre tabagismo e co-exposição, não forneceu nenhuma evidência consistente de excesso de risco para câncer de pulmão. O estudo de coorte canadense realizado em uma fábrica de fibra de vidro de filamento contínuo não incluiu uma avaliação de tabagismo ou co-exposição. Este estudo também não forneceu nenhuma evidência consistente de excesso de risco para câncer de pulmão.

Lã mineral de rocha (basalto) e lã de escória

Esta avaliação se baseia principalmente em estudos de coorte e de caso-controle aninhado, nos quais a exposição à lã de rocha (basalto) e exposição à lã de escória não foram consideradas separadamente.

O seguimento ampliado na coorte dos Estados Unidos de empregados que trabalham com lã de rocha (basalto)/lã de escória indicou um risco total elevado para câncer do trato respiratório quando foram feitas comparações com taxas nacionais ou locais. Entretanto, não foi possível encontrar nenhuma associação entre a duração da exposição ou o tempo desde a primeira exposição. As taxas padronizadas de mortalidade não foram consideradas elevadas quando foi feito um ajuste indireto para tabagismo. O estudo de caso-controle aninhado não indicou nenhuma associação entre câncer do trato respiratório e uma exposição cumulativa estimada para fibras respiráveis, com ou sem ajuste para possíveis variáveis de confusão como fumo e outras fontes de exposição ocupacional. Um outro estudo de caso-controle aninhado sobrepondo-se, em parte, com o estudo dos Estados Unidos, mostrou que não havia uma associação entre o aumento no risco de câncer do trato respiratório com exposição à lã de escória.

O seguimento ampliado do estudo europeu de coorte indicou um risco total elevado para câncer de pulmão quando os dados foram comparados com taxas nacionais. Este estudo mostrou que o risco aumenta com o passar dos anos, desde a primeira exposição. A taxa padronizada de mortalidade mais alta foi encontrada entre empregados com mais tempo de serviço e entre aqueles que foram contratados durante 'o início da tecnologia', por exemplo, antes da introdução de óleo e de ligantes e antes da adoção do método de processando em lote. Entretanto, em um estudo de caso-controle, no qual foram incluídas informações detalhadas sobre exposições às fibras, hábitos individuais de tabagismo e possíveis fatores de confusão ocupacionais, não foi relatado nenhum aumento no risco de câncer de pulmão relacionado com o aumento de exposição a fibra.

Os resultados destes estudos não fornecem evidências de um risco aumentado para mesoteliomas de pleura ou qualquer outro tumor.

Fibras de cerâmica refratária

Os resultados preliminares de um estudo epidemiológico realizado nos Estados Unidos com empregados expostos a fibras de cerâmica refratária foram disponibilizados. Entretanto, dados epidemiológicos limitados não permitem uma avaliação adequada do risco de câncer associado à exposição a fibras de cerâmica refratária.

Um estudo de coorte de trabalhadores em duas fábricas nos EUA que produzem fibras de cerâmica refratária incluiu 927 empregados, com um ou mais anos de tempo de serviço, entre 1952 e 1997 (Lemasters *et al.*, 2001). Há também um trabalho que trata de análise de risco (Walker *et al.*, 2002). A variação da exposição estimada foi de 10 fibras/cm³ (8-h TWA) nos anos 50 a < 1 fibras/cm³ na década de 90. Não foi informado nenhum aumento significativo na mortalidade por câncer. [O Grupo de Trabalho observou que não havia

informação sobre a quantidade de casos de câncer observados ou esperados, a não ser para câncer de pulmão.] Para câncer de pulmão o esperado era 9,35 mortes, os casos de morte foram seis, TPM, 0,64 (IC 95% 0,24] -1,27). Nenhum caso de mesotelioma foi observado. [O Grupo de Trabalho notou que os detalhes da definição da coorte e o período de seguimento não estavam claros e não havia uma análise de risco em relação ao tempo decorrido desde a primeira exposição ou em relação a substituições de exposição. A pequena quantidade de indivíduos nos estudos, especialmente aqueles com latência adequada limitou a qualidade da informação do estudo.]

Após a finalização da monografia do IARC sobre MMVF em 2002, foi publicada uma atualização do estudo dos Estados Unidos sobre empregados que trabalham com fibras de cerâmica refratária (FCR) [LeMasters et al., 2003]. Este estudo incluiu o mesmo grupo de empregados que trabalham com FCR, contratados entre 1952 e 1 de junho de st 1987 incluídos no estudo inicial [LeMasters et al., 2001], além de trabalhadores contratados entre 1 de Junho 1987 até 1 de janeiro de 2000. O estudo se limitou a trabalhadores com pelo menos 1 ano de contrato de trabalho, o que resultou em um estudo final contendo 942 trabalhadores. O estudo ampliou o seguimento da determinação de situação de vida até 31 de dezembro de 2000, resultando na identificação de 87 mortes por qualquer causa, e 29 mortes por câncer de pulmão. Observou-se um déficit na mortalidade de câncer do trato respiratório, a partir da análise da tabela de mortalidade para toda a população dos EUA (TPM=82,5, IC 95% = 37,7 a 156,7) ou a população do Estado de Nova York (TPM=87,5, IC 95% = 37,7 a 172,5), ambas usadas como grupo de referência. A análise realizada com o modelo de riscos proporcionais de Cox não demonstrou qualquer tendência entre uma exposição cumulativa a fibras FCR e o risco de câncer de pulmão. Nenhum caso de câncer de pleura ou mesotelioma foi identificado neste estudo que se baseou em uma análise das certidões de óbito. Um estudo de morbidade mais amplo forneceu infomação de que em cinco destas mortes placas pleurais estavam presentes e em 5 observaram-se alterações intersticiais [Lockey et al. 2002].

Para a interpretação dos achados do estudo de Lemasters uma questão crucial resume-se em saber se o estudo foi projetado de forma a possibilitar que um excesso de risco para mesotelioma ou câncer de pulmão fosse detectado. Os autores lembram que a pesquisa foi limitada pelo tamanho relativamente pequeno da população estudada, o fato de serem relativamente jovens (idade média =51) e talvez pela possibilidade de que não seriam comparáveis à população em geral. Sugerem que a coorte completara "um período razoável na empresa, desde que foram contratados" com uma latência média (tempo deste a primeira exposição) de mais de 21 anos. Deve-se observar, porém, que a latência média implica que uma fração substancial da coorte teria um acompanhamento inferior a 21 anos, e além do mais, baseado em nossa experiência com amianto, 21 anos pode não ser um período adequado, particularmente em se tratando de mesotelioma. Com base na dimensão do estudo, os autores avaliaram que esta coorte teria apenas 40 % de probabilidade (ou seja, poder estatístico) para detectar um aumento de 2 vezes no risco de mortalidade por câncer de pulmão.Uma análise da mesma coorte foi apresentada no trabalho de Walker et al. [2002], no qual os autores tentaram verificar se os achados do estudo eram ou não estatisticamente inconsistentes com o esperado para amianto. Os números esperados de câncer de pulmão foram deduzidos pela aplicação de modelos desenvolvidos por Hodgson e Damton [2000] para câncer de pulmão e mesotelioma. Os índices históricos para câncer de pulmão na população dos Estados Unidos foram utilizados com os modelos para estimar as mortes esperadas por este tipo de câncer. Seus achados indicaram que a ausência de morte por mesotelioma no estudo LeMasters não era estatisticamente inconsistente com o que seria esperado, tendo por base a potência do amianto. Para o câncer de pulmão, relataram que os resultados do estudo de Lemasters eram estatisticamente inconsistentes com o que seria esperado a partir da potência da crocidolita ou amosita, mas um efeito consistente com a potência para crisotila não poderia ser excluído. O comitê viu duas questões que limitam sua confiança na conclusão do autor sobre câncer de pulmão. Primeiramente, a população dos Estados unidos foi tomada como base para a mortalidade esperada para esta análise. Como sugeriram Lemasters et al., este pode não ser um grupo de referência apropriado para esta população. A TPM para câncer de pulmão, quando comparada à população dos Estados Unidos foi menor do que 100 para câncer de pulmão (TPM=82,5, IC 95% =37,7 a 156,7). Isto pode sugerir que os empregados que trabalham com FCR, neste estudo, formavam um seleto grupo, mais saudável do que a população em geral (ou seia, o efeito do trabalhador saudável). Uma outra guestão não abordada pela análise de Walker et al. é o seguimento relativamente incompleto da coorte de FCR. Os modelos para câncer de pulmão utilizados por Waker et al. advêm de estudos que provavelmente teriam um seguimento muito mais longo do que a coorte de FCR de Lemasters. Neste caso, então, um ajuste para este seguimento mais curto (se isto fosse possível) da coorte de Lemasters resultaria em um número menor de mortes esperadas por câncer de pulmão, e, deste modo, as diferenças entre os números previstos e os observados diminuiriam.

Imagens radiográficas indicam placas pleurais entre esta coorte de empregados que trabalham com fibras de cerâmica refratária. Ainda que o significado prognóstico das placas pleurais não seja evidente, tais placas são também uma descoberta comum entre trabalhadores expostos ao amianto.

Vários estudos não separaram a exposição à lã de vidro da exposição à lã mineral de rocha (basalto) e lã de escória ou outros tipos de fibras, ou tinham uma capacidade limitada de distinguir entre estes diferentes tipos de fibras. Já que havia muito mais informação em estudos epidemiológicos das indústrias de produção de fibra, não se fez avaliação separada para os estudos de exposição mista. Entretanto, os resultados destes estudos foram levados em consideração para a avaliação dos diferentes tipos de fibras.

Um estudo de coorte realizado com empregados na indústria de casas de madeira na Suécia expostos a fibras de vidro artificiais mostrou um risco diminuído para câncer de pulmão, e nenhuma tendência positiva nas taxas padronizadas de mortalidade para câncer de pulmão, relacionada a tempo de serviço. Um risco aumentado para câncer de estômago foi encontrado, mas este não aumentou com o tempo de serviço.

Dois estudos de caso-controle com base populacional, realizados na Alemanha, foram combinados em uma análise consolidada, que indicou uma relação entre câncer de pulmão e a exposição ocupacional a fibras vítreas artificiais. As razões de chance (odds ratio) foram ajustadas para o tabagismo e exposição ao amianto, entretanto, estes resultados só podem ser explicados pelo fato de que é possível que a exposição a fibras vítreas artificiais e a exposição ao amianto não tenham sido bem separadas, de forma a eliminar um fator de confusão residual. Uma baixa taxa de resposta em um dos grupos de referência é mais um dado que reforça nosso questionamento a respeito da validade desse estudo.

Um estudo caso-controle de base populacional do Canadá não encontrou nenhuma associação entre câncer de pulmão e exposição ocupacional à lã de vidro ou lã mineral de rocha (basalto) e lã de escória.

Um estudo caso-controle realizado na Alemanha sugeriu que havia uma associação entre mesotelioma e a exposição a fibras vítreas artificiais, ajustada para exposições ao amianto. Entretanto, várias limitações restringem a interpretação dos resultados relatados, em particular, o potencial para a classificação errônea de exposições ao amianto e fibras vítreas artificiais e o número pequeno de casos e controles classificados como tendo sido alguma vez expostos a fibras vítreas artificiais sem exposição ao amianto.

Um risco aumentado para câncer de laringe e câncer de hipofaringe, associado à exposição a fibras vítreas artificiais, foi relatado em um estudo caso-controle realizado na França, mas este foi um caso isolado não observado em outros estudos.

Cloreto polivinílico (PS)

Não há estudos epidemiológicos sobre fibras de cloreto polivinílico. Estudos realizados por Mastrangelo *et al.* (2005) e estudos anteriores de Wu *et al.* (1989) e Waxweller *et al.* (1981) não tratam da exposição a fibras e sim a partículas granuladas.

Polipropileno (SM)

Estudos de coorte com empregados expostos a polipropileno levantam preocupações relacionadas ao câncer colorretal nesta população. Este assunto tem sido tratado em poucos estudos epidemiológicos de coortes de populações que trabalham com a extrusão de fibras de polipropileno. Na atualização de uma investigação anterior relatando um excesso seis vezes maior de incidência de câncer colorretal em uma fábrica de polipropileno no Texas, Lewis et al. (1994) concluíram que não havia nenhuma indicação de risco relacionado àquele trabalho. A coorte era pequena, e consistia em apenas 412 homens. Um outro pequeno estudo (Cowles et al., 1994) com uma coorte de 257 homens, empregados de uma fábrica de resina e plástico em Nova Jersey, não relatou nenhum risco aumentado para câncer colorretal, embora os autores tenham observado um aumento significativo de câncer pancreático e um aumento não significativo de câncer de pulmão. O estudo não deixa claro se os empregados ficaram expostos às fibras e também não traz nenhuma informação a respeito de tabagismo.

Goldberg e Theriault (1994) realizaram um estudo retrospectivo de coorte muito maior, em uma fábrica de produtos têxteis sintéticos em Quebec. A coorte era composta de 7.487 homens e 2.724 mulheres, contratados a pelo menos um ano. Para os homens, o risco de câncer de cólon aumentou com o aumento do tempo de serviço na unidade de extrusão de polipropileno e triacetato de celulose.

Em um estudo transversal sobre os efeitos nas vias respiratórias entre 50 empregados expostos a resíduos de polipropileno e 45 controles, a tomografia computadorizada de alta resolução (HRCT) detectou os primeiros sinais de doença pulmonar intersticial (Atia *et al.*, 2005).

ESTUDOS IN VIVO EM ANIMAIS

Aramida e Para-aramida

OS DADOS APRESENTADOS SE REFEREM EXCLUSIVAMENTE À PARA-ARAMIDA: NÃO HÁ DADOS SOBRE A META-ARAMIDA.

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

O desenvolvimento de cistos queratinizantes nos pulmões de ratos após exposição de longo prazo à inalação não foi considerado como indicador de carcinogenicidade nas avaliações do IARC 1997. O estudo foi encerrado após 24 meses

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Não há dados disponíveis

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Aos 280 f/cc após 2 semanas, observou-se um espessamento fibrótico, com uma recuperação quase completa após 4-6 meses (Lee, 1983 citado em Warheit 2001). No estudo de 2 anos observou-se fibrose após exposição a ≥25 f/cc. No estudo de Bellman *et al.* (2000), lesões fibróticas e hiperplásicas foram observadas nos grupos de doses médias e altas (200 e 800 f/ml), diretamente após a exposição

PARA O OUTRO GRUPO: Após exposição subcrônica, as meias vidas para fibras OMS de p-aramida foram de 62, 76, 173 dias após exposição a 50, 200, e 800 fibras respiráveis (Bellmann *et al.* 2000)

Searl *et al.* (1997) relataram que a meia vida aumentava com o tempo após a interrupção da exposição: 4,5 semanas para o primeiro mês, 7 semanas para o período 1 mês – 6 meses, 9,1 semanas de meia vida

PROLIFERAÇÃO

Não há estudos in vivo disponíveis

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

O grupo de trabalho sabe da existência de um estudo de carcinogenicidade ainda não publicado que pode afetar a interpretação do banco de dados.

Nível de confiabilidade fraco

Fibras vítreas artificiais - silicatos (lã de vidro, lã mineral, vidro fibroso, silicatos vítreos para usos especiais, fibras de cerâmica refratária)

Do ponto de vista toxicológico/biológico não faz sentido estabelecer uma diferenciação entre os tipos de fibras relacionados acima, pois todas são vítreas e semelhantes, em termos de composição química. As dimensões das fibras e a quantidade relativa de componentes químicos individuais podem variar bastante, o que resulta em diferenças significativas na forma como são depositadas e na resposta biológica e toxicológica. Isto pode ser mais facilmente demonstrado pelas diferenças na biopersistência de diferentes fibras.

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Algumas fibras testadas mostram uma resposta positiva definida (E-glass, RCF1) ou seja, induziram câncer de pulmão em ratos. Ambas continham partículas granuladas e não se pode excluir que estas partículas granuladas contribuíram para a indução de tumores de pulmão. Também foi possível obter uma indicação de potência tumorigênica (E-glass é mais potente do que 475). Outras fibras (por exemplo, MMVF 10, 11, 21) não induziram tumores, mas em muitos estudos, a exposição, em relação à concentração de fibras (mas não necessariamente à concentração total de massa), foi baixa.

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Quando comparado com estudos de inalação em ratos, o teste de carcinogenicidade de fibras por injeção intraperitoneal é considerado um teste sensível. Com este sistema, é possível detectar o efeito carcinogênico de fibras cuja potência é três ordens de magnitude mais baixa do que a potência do crocidolita, como o B-01-0,9. Verificou-se uma associação próxima entre a biopersistência da fibra no pulmão e a potência carcinogênica no peritôneo. Em ordem de potência (quantidade de fibras (L>5 micra) exigida para induzir tumores ao nível de 25% tivemos: crocidolita, cerâmica, basalto (lã de rocha de basalto), MMVF-21 (lã de rocha de basalto), B-20-2,0 (lã de rocha de basalto experimental), M-stone (lã de rocha de basalto); MMVF-11 (lã de vidro), M-slag (lã de escória); B-09-2,0 (lã de vidro experimental); R-stone-E3 (lã de rocha de basalto experimental) B-01-0,9 (lã de vidro experimental) (Roller & Pott, 1996;TRGS-906).

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Uma variação de resposta relacionada à biopersistência semelhante àquela observada para a potência carcinogênica também foi observada para as alterações fibróticas no pulmão após exposição à inalação.

PROLIFERAÇÃO

Foi possível observar uma proliferação de epitélio brônquico terminal e de células alveolares parenquimatosas após 3 meses de exposição à inalação de E-glass e MMVF21 e das lãs minerais de rocha RIF 41001, RIF42020-6 (Bellmann & Muhle 2003; Kamstrup 2004).

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Banco de dados relativamente extenso. Bom nível de confiabilidade.

Carbono / grafite

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Não há estudos válidos disponíveis

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Sem dados

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Em dois estudos de 16 semanas com ratos, não se observou fibrose com uma concentração de exposição de 20 mg/m3 (quantidade de fibras não mencionada; diâmetros das fibras 3,5 e 7 micra)

PROLIFERAÇÃO

Sem dados

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Banco de dados limitado, nível de confiabilidade fraco.

Wolastonita

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Não se observaram tumores em ratos expostos a até 55 fibras OMS/ml, correspondendo a 10 mg/m3. A quantidade de números OMS no estudo foi, portanto, baixa; esta exposição foi de 20 meses, e o seguimento foi ampliado até a ocorrência de morte natural dos modelos animais.

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Quando os ratos receberam uma injeção intraperitoneal de 430 10⁶ não foram observados nenhum tumor na região abdominal (Pott *et al.*, 1987, 1989 Monografia vol. 68). Da mesma forma, em outro estudo com injeção intraperitoneal (Rittinghausen *et al.* 1991, 1992 Monografia vol. 68), no qual os ratos eram injetados com 30 mg de wolastonita, não se observou nenhum tumor na região abdominal. Os animais foram sacrificados 130 semanas após o início do tratamento.

Existem outros estudos negativos com exposição por injeção intraperitoneal (Monografia 68)

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

No estudo de carcinogenicidade por inalação não se observou nenhum caso de fibrose após um ano (0/6 estudados); após dois anos, 1/6 animais apresentaram fibrose intersticial.

PROLIFERAÇÃO

A injeção intraperitoneal de wolastonita induziu uma resposta [inflamatória e] proliferativa precoce (incorporação de BrdU) em camundongos, que cedeu em 21 dias (McDonald *et al.*, 1997). Dois porcento das fibras permaneciam após 6 meses.

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Banco de dados bom, bom nível de confiabilidade

Celulose

Há uma marcante heterogeneidade entre a celulose e materiais contendo celulose (por exemplo, celulose sulfato alvejada, polpa termomecânica, celulose microcristalina, celulose para TLC, celulose utilizada para isolamento)

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Não há estudos disponíveis

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Uma fração respirável da fibra de celulose foi coletada de um aerossol de polpa de madeira tratada termomecanicamente, contendo, portanto, além de celulose, outros componentes como lignina. Havia duas vezes mais fibras longas de celulose (24%) (>15 micra) na comparação com fibras de crocidolita; a dose total de fibras foi de 116 mg para celulose e 1,8 mg para crocidolita. As doses totais administradas por meio de injeção intraperitoneal nos ratos, foram $10^6 - 10^9$ fibras OMS. A crocidolita $(10^8 - 10^9$ fibras OMS) foi usada como controle "positivo" mas não se observaram tumores neste grupo. Nove dentre os 50 animais do grupo de 10^9 de celulose apresentaram tumores malignos não derivados do mesotélio (sarcomas), dois animais no grupo de doses baixas (um em cada grupo) desenvolveram mesoteliomas (Cullen *et al.*, 2002).

Cullen *et al.* (2002) concluíram que uma alta dose de fibras de celulose é capaz de produzir tumores quando injetada na cavidade abdominal de ratos. Entretanto, os achados não-positivos após injeção de altas doses de crocidolita, bem como o tipo raro de tumor e seu surgimento precoce após a administração de celulose, levanta a dúvida se os tumores observados foram causados pelo mecanismo geral de carcinogênese das fibras.

Rosenbruch *et al.* 1992: Em um estudo a longo prazo em ratos, onde celulose sulfato (L:D 3:1) 1,5 x 10⁴ foi administrada através de injeção intraperitoneal a ratos, nenhum tumor foi observado. A dose foi consideravelmente menor do que aquela usada no estudo de Cullen (*Verificar o tamanho das fibras e outros detalhes*).

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

A celulose, após uma única dose endotraqueal (15 mg por animal) causou alveolite fibrosante granulomatosa e bronquiolite e um aumento na produção de IgA no lavado bronquioalveolar (Tatrai *et al.*, 1996). A alveolite fibrosante demonstrou progressão moderada, como função do tempo. Neste nível de dose, pode-se dizer que todos os materiais induziriam fibrose.

PROLIFERAÇÃO Não há estudos disponíveis

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Considerando a grande variedade de produtos com celulose, o banco de dados necessário para examinar todas as entidades é fraco.

Álcool polivinílico

Não há dados disponíveis

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

zero

Polipropileno

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO Não há dados disponíveis

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL Não há dados disponíveis

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

A toxicidade pulmonar do polipropileno foi testada por Hesterberg et al. (1992) em 344 ratos Fischer machos 90 dias após a exposição por inalação. O grupo de recuperação foi examinado 30 dias após a interrupção da exposição. As fibras de polipropileno foram selecionadas por tamanho, de forma a terem um diâmetro geométrico médio de 1,2 micra (GSD 0,3) (46% < 1 mícron) e um comprimento geométrico médio de 30,3 micra. Três grupos de animais ficaram expostos em câmaras de inalação (apenas o nariz), 6 hr/dia, 5 dias/semana, por 90 dias com 15, 30, ou 60 mg/m³ de polipropileno, ou ar filtrado (controle negativo). Aos 90 dias, a carga de fibras no pulmão era de 26 x 10⁶ f/pulmão. Não se observou nenhuma fibrose em nenhum dos grupos tratados com polipropileno (Escala de Wagner 3); no grupo de controle positivo, tratado com FCR, o grau na escala de Wagner foi de 4,0.

Warheit *et al.* (1999) descreveram um estudo no qual os ratos eram expostos a fibras de polipropileno (diâmetro médio: 1,6 µm, comprimento médio: 20 µm). Os ratos desenvolveram alterações pulmonares dose- e tempo-dependentes caracterizadas por celularidade aumentada e bronquiolite precoce, sem entretanto presença de fibrose.

PROLIFERAÇÃO Não há dados disponíveis

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Para câncer, sem dados = não confiável; para fibrose, nível médio de confiabilidade

Atapulgita

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Em um estudo de inalação em ratos, com atapulgita, realizado em Leicester, Reino Unido, no qual cerca de 20% das fibras tinham mais de 6 micra, observou-se hiperplasia broncoalveolar e alguns tumores benignos e malignos, além de mesoteliomas. Em vários estudos envolvendo a exposição de ratos por inalação de fibras curtas ($\le 0.5\%$ mais longas ou iguais a 5 micra) não se observou nenhum aumento na incidência de tumores.

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL / INTRAPLEURAL

A amostra de atapulgita de Leicester descrita acima também induziu uma alta incidência de mesoteliomas de pleura em ratos, após uma administração intrapleural. Uma amostra de atapulgita, na qual 0,5% das fibras tinham mais do que 6 micra, produziu um aumento significativo de mesoteliomas de pleura após administração intrapleural. Uma injeção intraperitoneal de atapulgita na qual 30% das fibras eram maiores do que 5 micra, e outra injeção de atapulgita na qual 3% das fibras eram maiores do que 5 micra, induziram tumores abdominais malignos em ratos.

Em vários estudos envolvendo a exposição de ratos através de administração de injeção intrapleural ou intraperitoneal de fibras curtas ($\leq 0.5\%$ maiores ou iguais a 5 micra) nenhum aumento na incidência de tumores foi observada.

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

No estudo de inalação a longo prazo de Wagner *et al.*, o score de fibrose foi de 3,2 após exposição a < 2 micra de atapulgita e de 4,0 após exposição a atapulgita com > 6 micra.

PROLIFERAÇÃO Sem dados

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

O nível de confiabilidade dos dados de carcinogenicidade e fibrogenicidade é bom.

Polietileno

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Não há estudos disponíveis

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Não há estudos disponíveis

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Não há estudos disponíveis

PROLIFERAÇÃO

Não há estudos disponíveis

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Zero

Xonotlita (Silicato de cálcio)

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Sem dados

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL / INTRAPLEURAL

Silicato de cálcio (Syn-Xo-1), em uma dose de 1 mg, não induziu tumores na região intrapleural em ratos após administração intrapleural em um estudo de 25 meses; neste estudo, 2 amostras de crisotila (de 5) e uma amostra de sepiolita (de 2) induziram mesoteliomas (Fukuda *et al.*, 1985-7).

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Não foi observada fibrose após instilação endotraqueal de 10 mg ou 5 mg (Lemaire *et al.* 1989). O silicato de cálcio (Syn-Xo-1) não induziu fibrose em ratos (estudo de 25 meses) ou camundongos (18 meses) após a administração de injeção intraperitoneal.

PROLIFERAÇÃO

Sem dados

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Média

Whiskers básicos de sulfato de magnésio

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Nenhum tumor foi induzido em estudo a longo prazo (um ano de exposição, período de observação total de 2 anos; não há registros de quantidade de fibras mas a concentração foi de 1,4 mg/m3) em ratos.

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Sem dados

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Não se observou nem fibrose nem metaplasia no estudo de inalação descrito acima.

PROLIFERAÇÃO

Sem dados

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE DO BANCO DE DADOS

Fraca

Titanato de potássio

CARCINOGENICIDADE POR INALAÇÃO

Em um estudo de dois anos de inalação (até 200 fibras OMS/ml) em ratos, nenhum tumor foi observado. O período de observação, foi, portanto, curto e a concentração de exposição foi baixa demais para uma detecção confiável de indução de tumor.

Em um outro estudo de dois anos (um ano de exposição, 1 ano adicional de seguimento) em ratos, nenhum tumor foi observado.

CARCINOGENICIDADE POR INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

Há quatro estudos de injeção intraperitoneal, sendo um em hamsters, e três em ratos. Em todos os estudos, foi possível observar uma incidência dose-dependente aumentada de mesotelioma. (Lee *et al.*; Adachi *et al.*, Pott *et al.*, Stanton 1978)

FIBROSE EM EXPOSIÇÃO POR INALAÇÃO / INSTILAÇÃO ENDOTRAQUEAL / INJEÇÃO INTRAPERITONEAL

No primeiro estudo de dois anos de inalação em ratos, descrito acima, não se observou nenhuma fibrose, enquanto no outro, apenas houve relatos de uma forma branda de fibrose.

PROLIFERAÇÃO

Sem dados

POTÊNCIA

CONFIABILIDADE

Boa

Conclusões

Fibras de Celulose

Um ligeiro excesso de incidência de câncer de pulmão foi observado em diferentes subgrupos de todos os três estudos, e um excesso de incidência de câncer de pleura foi relatado em um estudo. Estes achados são difíceis de interpretar, dada a falta de informação sobre exposição a fibras de celulose, em função da maior quantidade de produtos químicos e outros fatores de exposição nestas coortes, e a falta de controle para tabagismo. O autor também sugere que o excesso de câncer de pleura seria explicado pela exposição ao amianto, mas eles não forneceram nenhum dado a respeito da duração desta exposição. A informação fornecida nestes estudos não é suficiente para que possamos chegar a qualquer conclusão a respeito da carcinogenicidade de fibras de celulose.

Polipropileno

Há pouca evidência epidemiológica sugerindo uma associação entre exposição a PP e câncer de pulmão ou mesotelioma. Apesar de haver um excesso de câncer de cólon em dois dos três estudos, não ficou claro se houve exposição às fibras em todos os três estudos, e se estes achados podem ou não ser atribuídos à exposição ocupacional a fibras de polipropileno.

FCR

O banco de dados epidemiológicos é, em grande parte, inadequado, nesta ocasião, no que diz respeito à avaliação da carcinogenicidade da FCR, pois apenas um estudo de coorte encontra-se disponível. Este estudo é relativamente pequeno, e pode ter tido um seguimento inadequado para poder detectar um efeito seja de câncer de pulmão ou de mesotelioma. Observou-se nesta coorte uma alta prevalência de placas na pleura, o que levanta preocupações, pois esta é uma indicação de que a FCR chega até a pleura, o local do mesotelioma. Será necessário um seguimento adicional desta coorte para que se faça uma avaliação do significado destes efeitos. Igualmente desejável seria a identificação de novas coortes de empregados expostos a FCR.

Lã de vidro e fibra de vidro de filamento contínuo

Não há nenhum estudo novo desde a publicação da monografia da IARC para MMVF (Fibra de vitro artificial) (2002) concluindo que a evidência de carcinogenicidade para fibras de lã de vidro era inadequada. Este grupo de trabalho aceitou as conclusões da monografia da IARC.

Lã de rocha e de escória

Não há nenhum estudo novo desde a publicação da monografia da IARC para MMVF (2002) concluindo que a evidência de carcinogenicidade para fibras de lã mineral de rocha era inadequada. Entretanto, este grupo de trabalho observou que há alguma evidência nestes estudos sugerindo um aumento potencial de risco para câncer de pulmão.

(colocar após a última frase do resumo da monografia da IARC.) Entretanto, este grupo de trabalho observou que neste estudo não foi possível fazer uma cobertura do período anterior de seguimento, no qual haveria provavelmente exposições mais altas à lã mineral de rocha.

WolastonitaO único estudo pequeno e não positivo de coorte não é adequado para a avaliação da carcinogenicidade da wolastonita.

Atapulgita

O único estudo pequeno e ligeiramente positivo de coorte não é adequado para a avaliação da carcinogenicidade da atapulgita.

Resumo dos resultados de ensaios de genotoxicidade in vitro de curto prazo e efeitos relacionados

Fibras de aramida e para-aramida

Os dados disponíveis sobre a genotoxicidade destas fibras são muito limitados. Um estudo investigou aberrações cromossômicas, poliploidia endoreduplicação em linfócitos humanos e o resultado foi negativo. Entretanto, o resultado não é informativo, pois o projeto do estudo foi considerado questionável porque no mesmo estudo demonstrou-se que os linfócitos não eram capazes de fagocitar fibras. Um outro estudo mostrou atividade proliferativa de fibras de aramida em células epiteliais de *hamster*, mas não foram observados efeitos em fibroblastos de pulmão de ratos.

Conclusão: Segundo dados disponíveis, não é possível chegar a uma conclusão sobre a genotoxicidade das fibras de aramida e para-aramida.

Fibras de celulose

Os endpoints investigados são (1) produção de espécies reativas de oxigênio, (2) indução de apoptose e (3) resposta inflamatória precoce (TNF alpha). Descobriu-se uma produção aumentada de peróxido de hidrogênio em granulócitos e neutrófilos humanos, entretanto, a informação é limitada já que estão faltando as características precisas da fibra. Não houve aumento na expressão de TNF alpha em macrófagos de ratos. Há relatos de liberação de mediadores inflamatórios precoces (PA, IL1, PGE2, LTC4).

Conclusão: Segundo dados disponíveis, não é possível chegar a uma conclusão sobre a genotoxicidade das fibras de celulose.

Fibras de polietileno

Um trabalho relatou citoxicidade *in vitro* de poeira de polietileno não fibroso. Não há dados disponíveis sobre a genotoxicidade de fibras de polietileno.

Conclusão: Não é possível chegar a uma conclusão sobre sua genotoxicidade.

Fibras de polipropileno

Um trabalho relatou citoxicidade *in vitro* de poeira de polipropileno não fibroso. Não há dados disponíveis sobre a genotoxicidade de fibras de polipropileno.

Conclusão: Não é possível chegar a uma conclusão sobre sua genotoxicidade

Fibras de álcool polivinílico

Não há dados disponíveis sobre a genotoxicidade de fibras de álcool polivinílico.

Conclusão: Não é possível chegar a uma conclusão sobre sua genotoxicidade.

Fibras de cloreto de polivinil

Dois estudos relatam citoxicidade e liberação de mediadores inflamatórios *in vitro*, mas não há dados disponíveis sobre a genotoxicidade de fibras de cloreto de polivinil.

Conclusão: Não é possível chegar a uma conclusão sobre sua genotoxicidade.

Wolastonita

Em sistemas de teste subcelular, a wolastonita induziu danos oxidativos na base de DNA (8-oxo-dG, em solução). Em um sistema de teste celular, quebras na cadeia de DNA foram induzidas em macrófagos alveolares de ratos (medidas por ensaio COMETA), e espécies reativas de oxigênio em linfócitos polimorfonucleares humanos. Além do mais, quebras na cadeias de DNA e crosslinks DNA-DNA foram induzidos em células de pulmão humano A549, detectadas através de ensaio COMETA; na mesma linhagem celular, diferentes tipos de aberrações cromossômicas foram induzidas de uma forma dose-

dependente. Induziu também poliploidia em células de pulmão de *hamster* chinês. Não induziu apoptose em células de mesotelioma de pleura (humano e de coelhos).

Conclusão: A wolastonita é genotóxica em endpoints diferentes.

Xonotlita

Em sistemas de teste subcelular, não houve formação de danos oxidativos na base de DNA (8-oxo-dG, em solução) nem se observou a geração de espécies radicais (formate oxidation test *in vitro*). Entretanto, induziu poliploidia em células de pulmão de *hamster* chinês. A síntese não programada de DNA (UDS; em hepatócitos primários de ratos) foi negativa.

Conclusão: Segundo um estudo informativo, a xonotlita é genotóxica no que diz respeito à poliploidia; outros endpoints relevantes não foram testados.

Atapulgita

Em sistemas de teste subcelular, não se induziu danos oxidativos na base de DNA, em solução. A atapulgita não induziu quebras na cadeias de DNA em DNA isolado de timo de bezerros (ct), mas induziu a formação de 8-oxo-dG em ctDNA na presença de FeSO4 e peróxido de hidrogênio. A formação de radicais hidroxila induzida por fibras em células endoteliais (veia umbilical humana, artéria pulmonar bovina). Não causou trocas de cromátides-irmãs (SCE) em hepatócitos primários de ratos ou em células de mesotelioma de ratos, ou UDS em hepatócitos primários de ratos (dois estudos). Um estudo relatou que os captadores de radicais e o quelador desferroxamina tinha um efeito protetor sobre células endoteliais humanas e bovinas em cultura contra citoxicidade induzida por atapulgita.

Conclusão: As evidências para a indução de ERO são limitadas; não há dados suficientes para avaliar a genotoxicidade.

Whiskers de sulfato de magnésio

Esta fibra não induziu quebras na cadeias de DNA em DNA isolado de timo de bezerros ou danos oxidativos na base de DNA (8-OH-dG, em solução). Não há mais nenhum dado sobre genotoxicidade disponível. Causou uma produção significativa de fator de necrose tumoral alfa em macrófagos alveolares de ratos (as duas fibras 4,9- e 12-µm).

Conclusão: Não é possível chegar a uma conclusão sobre sua genotoxicidade.

Fibras de carbono e whiskers de grafite

Fibras tipo whisker de carbeto de silício induziram quebras na cadeia de DNA e crosslinks DNA-DNA em células de pulmão humano A549, conforme constatado por ensaio COMETA; na mesma linhagem celular, diferentes tipos de aberrações cromossômicas foram induzidas de uma forma dose-dependente.

Conclusão: Segundo um estudo de informativo, whiskers de carbeto de silício são genotóxicos em endpoints diferentes.

Whiskers de octatitanato de potássio

Esta fibra não induziu danos oxidativos na base de DNA em células murinas J774. Entretanto, quebras na cadeias de DNA e crosslinks DNA-DNA foram induzidos em células de pulmão humano A549, detectadas através de ensaio COMETA; na mesma linhagem celular, diferentes tipos de aberrações cromossômicas foram induzidas de uma forma dose-dependente. Além do mais, o octatitanato de potássio causou uma liberação dose-dependente de TNF-alpha em macrófagos de ratos e camundongos *in vitro* (dois estudos). Após instilação endotraqueal ele induziu um aumento na expressão de IL-1 mRNA em ratos.

Conclusão: Segundo um estudo informativo, whiskers de octatitanato potássio são genotóxicos em diferentes endpoints e há liberação de mediadores de estimulação de crescimento.

VIDRO FIBROSO

As fibras de vidro Código 100 produzem resultados positivos quando avaliamos danos cromossômicos e formação de micronúcleos em diferentes tipos de células de *hamster*. Também causam transformações em células SHE, NIH3T3 e BALBc-3T3. Em células SHE, a redução do comprimento da fibra através do processo de moagem, sem nenhuma incidência sobre o diâmetro, reduziu a potência transformadora destas fibras.

As fibras MMVF10 e MMVF-21 produziram anomalias nucleares (micronúcleos e ploidia) em células CHO mas nenhuma formação de anomalias em anáfase/telófase em células RPM (Monografia IARC 2001).

Outros tipos de vidro fibroso também foram investigados (ver monografia IARC 2001). Quebras no DNA, formação de células bi- e multinucleadas, aberrações cromossômicas e transformações celulares foram detectadas e relatadas em vários trabalhos.

Em um ensaio *in vivo*, um aumento significativo de 8-OH-dG foi descoberto no DNA de células mesoteliais, após injeção de MMVF11 na cavidade pleural de ratos Wistar, 10 dias após a inoculação de 2x50 mg. A crocidolita foi usada como controle positivo.

Em estudos nos quais fibras menores e mais finas produziram um efeito positivo, fibras muito longas e grossas produziram resultados negativos. Vários estudos enfatizam a dimensão da fibra como fator importante na formação de núcleos anômalos e danos cromossômicos: indução de núcleos anômalos (micronúcleos, polinúcleos) em células CHO expostas a 17 amostras diferentes de fibras de vidro (Hart *et al.*, 1994); indução de anáfases/telófases anômalas em células mesoteliais de pleura de ratos, Yegles *et al.* (1995). Neste último experimento, descobriu-se que a produção de anomalias estava relacionada à presença de fibras previamente descobertas por Stanton *et al.* (1977), como sendo as mais carcinogênicas, com nível de efeito não observável estimado em 2,5 x 10⁵ fibras (comprimento > 8 μm; diâmetro ≤ 0,25 μm). Estas fibras foram mal representadas nas amostras de MMVF usadas no ensaio, o que foi responsável pela ausência de efeito das fibras de vidro testadas (MMVF10 e MMVF11).

Muitos estudos enfocam a produção de ERO pelos macrófagos alveolares de roedores ou leucócitos polimorfonucleares humanos tratados com diferentes tipos de vidro fibroso. Entre eles temos código 100, código 100/475, MMVF10, MMVF11. Detectou-se uma produção constante de ERO. Mais recentemente, descobriu-se a geração de NO_2 e a formação de S-nitrosothiols (mas sem geração de O_2 °) em células RAW264.7 e J774 expostas a uma amostra de lã de vidro (Nishiike *et al.*, 2005).

As fibras de vidro freqüentemente produzem hidroxilação da guanina no DNA em ensaios acelulares in vitro.

Em um teste *in vivo*, realizado em ratos BigBlue, não se detectou nenhuma mutação após exposição de curto prazo por inalação por 5 dias, a fibras CM44, quando foi feito o contraste com o controle positivo (crocidolita) (Bottin *et al.*, 2003). (Observação: o comprimento médio das fibras CM44 foi de 3,8 μm).

LÃS MINERAIS

Há poucos dados disponíveis sobre os efeitos genéticos de lãs minerais, mas alguns estudos sugerem que há um potencial genotóxico.

A fibra MMVF21 (lã mineral de rocha) produziu anomalias cromossômicas (micronúcleos e poliploidia) em uma linhagem de célula CHO (Hart *et al.*, 1994). Uma amostra de lã mineral de rocha produziu danos ao DNA (quebra, crosslinks) em A549 (teste com uma dose), e aberrações cromossômicas em células de pulmão de embriões (ver monografia da IARC 2001). Dados não informativos mais recentes, sobre genotoxicidade, relatam fagocitose de amostras de lã de rocha de basalto (A, B1, B2, C) e apoptose em U937 diferenciadas (uma linhagem monocítica diferenciada com TPA).

A produção de ERO foi encontrada em estudos realizados com lã mineral de rocha (incluindo MMVF21) e macrófagos alveolares de ratos ou leucócitos polimorfonucleares humanos.

Foram realizados alguns testes com bactérias. Mutações e a formação de adutos fluorescentes foram relatados para *Salmonella thyphimurium* TA100 e TA104, respectivamente. Em um estudo, a peroxidação de lipídios foi detectada para *Salmonella thyphimurium* TA104 e fibroblastos de pulmão de ratos expostos a MMVF21.

MMVF22 (lã de escória) também produziu anomalias cromossômicas (micronúcleos e poliploidia) em uma linhagem de célula CHO (Hart *et al.*, 1994). Outra amostra de lã de escória produziu danos ao DNA (quebra, crosslinks) em A549 (teste com uma dose), e aberrações cromossômicas em células de pulmão de embriões (ver monografia IARC 2001).

Em estudos realizados com lã de escória (incluindo MMVF22) e macrófagos alveolares de ratos ou leucócitos polimorfonucleares humanos descobriu-se produção de ERO.

Para ambos, lã mineral de rocha e lã de escória, dados sobre danos oxidativos ao DNA usando testes *in vitro* podem ser considerados não conclusivos, já que tanto resultados positivos quanto negativos foram encontrados, e com mais frequência com apenas uma dose das fibras.

FIBRAS DE CERÂMICA REFRATÁRIA

A FCR demonstrou genotoxicidade com relação a danos ao DNA (quebra e crosslinks) em uma linhagem de célula epitelial humana A549, formação de micronúcleos e aberrações cromossômicas estruturais e numéricas em células do líquido amniótico humano, bem como aberrações estruturais em células embriônicas humanas (IARC 2002).

A FCR1 e FCR3 produziram uma transformação nas células SHE mas a FCR4 produziu um efeito fraco (Elias *et al.*, 2002). Neste estudo, qualquer que seja a avaliação - por peso, ou quantidade total de fibras ou quantidade de fibras > 10 μm de comprimento - a classificação foi FCR3 > FCR1 >> FCR Esta classificação corrobora os resultados obtidos com estudos de inalação nos quais o percentual de tumores de pulmão foi 14,9%, 12,4% e 3,4%, respectivamente (Rossiter e Chase 1995). O revestimento de ferro atenuou o nível de transformação (Elias *et al.*, 2002).

Entretanto, resultados negativos foram encontrados em um ensaio investigando a formação de anomalias em anáfase-telófase em células RPM expostas a FCR1, FCR3, FCR4 (Yegles *et al.*, 1995). Este resultado foi atribuído a uma quantidade insuficiente das assim chamadas fibras "Stanton", às quais as fibras foram expostas, e descobriu-se uma dose limiar de 2,5x10⁵ fibras/cm², segundo os resultados obtidos com várias outras amostras de fibras (amianto, fibras de vidro)

Entretanto, mutações de gene (seja no locus HPRT ou S1) não foram encontradas em células híbridas A_L expostas a fibras FCR1, mas nenhum outro estudo com este tipo de end point foi encontrado (Okayasu *et al.*, 1999).

Em um ensaio COMETA realizado por Cavallo *et al.*, encontrou-se dano direto ao DNA em células mesoteliais MeT-5A expostas a amostras de FCR, mas nenhum dano oxidativo ao DNA (Cavallo *et al.*, 2004). [Observação: entretanto, uma melhoria não significativa foi observada]. Este estudo demonstrou a ocorrência de fagocitose.

Todos os estudos realizados em macrófagos alveolares de ratos e leucócitos polimorfonucleares humanos demonstraram a produção de ERO, quando expostos a FCR (IARC 2002). Nishiike *et al.* descobriram a geração de óxido de nitróxido e a formação de S-nitrosothiols, mas não de O_2° (Nishiike *et al.*, 2005) em células RAW264,7 e J774 células expostas a uma amostra de fibras de cerâmica refratária.

Estes resultados sugerem o potencial de FCR de acionar a geração de ERO, ERN por células inflamatórias, mas há alguns resultados contraditórios sobre a capacidade das fibras de produzir ERO diretamente.

Estas investigações foram realizadas em células de não-mamíferos. Adutos fluorescentes de malondialdeido de DNA foram observados em *Salmonella thyphimurium* exposta a FCR-1, bem como aneuploidia em *Drosophila melanogaster* alimentadas com FCR

Em resumo, não se detectou nenhuma mutação em virtude de fibras cerâmicas (segundo um estudo apenas), mas detectou-se algum dano cromossômico e ao DNA, bem como transformação celular. A resposta parece ser dependente das dimensões da fibra (fibras longas e finas).

Importância de estudos experimentais de curta e longa duração, em animais, para a avaliação do perigo potencial das fibras para a saúde humana.

Os end points estudados para seres humanos são os efeitos de longo prazo, principalmente aqueles relacionados ao câncer e à fibrose. Alguns efeitos, tais como irritação cutânea e bissinose, resíduos de nylon no pulmão dos empregados não serão considerados neste estudo. (Pergunta para o painel?)

A principal via de entrada para seres humanos é a inalação. A exposição oral está fora da abrangência deste documento.

1. ESTUDOSEXPERIMENTAIS DE CURTA DURAÇÃO EM ANIMAIS IN VIVO

1.1 Metodologia

As dimensões da fibra de aerossol deveriam se aproximar o máximo possível das dimensões da fibra encontradas em casos de exposição de seres humanos. Entretanto, como o fator respirabilidade é diferente entre homens e ratos, sendo que este depende principalmente do diâmetro da fibra, deve-se tomar um cuidado especial com o comprimento da fibra. Não faz sentido aumentar o comprimento da fibra do aerossol artificialmente em estudos de inalação com animais, se os seres humanos estão expostos principalmente a fibras muito mais curtas.

A carga/quantidade de fibras no pulmão e suas dimensões devem ser determinadas em momentos apropriados, durante e após a exposição. Esta providência indicará se as concentrações de exposição foram escolhidas de forma adequada e oferece uma visão do comportamento (desaparecimento, ruptura) das fibras no pulmão.

A adequação do projeto de estudo e seu desempenho devem ser verificados através de um controle positivo

Em estudos sobre fibrose e inflamação, é importante que um grupo de recuperação faça parte do projeto.

1.2 Efeitos

Muitos dos parâmetros de verificação final (endpoints) foram medidos. Isto proporciona informação de apoio vis a vis os efeitos tóxicos (peso pulmonar, LBA), mas a discussão presente limita-se àqueles que podem ter alguma relação com carcinogenicidade ou fibrose.

Casos de fibrose (como demonstrado pela histopatologia em experimentos animais) podem ser observados caso a exposição seja suficientemente longa (90 dias), especialmente quando um grupo de recuperação é examinado. Ainda não se demonstrou que fibrose é pré-requisito para carcinogênese.

A proliferação de células epiteliais é um mecanismo reparador que se inicia após o tecido ter sido lesionado, mas a proliferação de células alvo para disparar carcinogênese acima dos níveis históricos pode ser considerada como passo essencial na carcinogênese, à medida que aumenta a probabilidade de aparecimento de populações de células que sofreram mutações. Uma proliferação aumentada que persiste após o final da exposição deve merecer atenção especial.

Foi possível demonstrar a relação entre a proliferação de células epiteliais e câncer, em experimentos com animais para: amosita, crocidolita, MMVF21, e fibras de vidro para usos especiais, fibras E e fibras 475.

Após uma injeção intraperitoneal de fibras, é possível estudar alterações proliferativas em células do peritôneo, que dão origem a mesoteliomas. Os dados disponíveis mostram que a proliferação de células mesoteliais é maior para fibras do que para poeira granular.

Inflamação

A análise de LBA indica a extensão da inflamação pulmonar. Trata-se de informação que corrobora dados sobre fibrose especialmente relacionada aos efeitos de exposição à sílica, menos claras no caso de fibras.

A histopatologia do pulmão pode indicar um possível potencial carcinogênico (especialmente metaplasia).

Genotoxicidade (do grupo 2)?

2. LONGA DURAÇÃO (INALAÇÃO)

O objetivo principal é o de detectar a fibrose e/ou a resposta carcinogênica.

O tipo predominante de tumor em ratos, depois de exposição a certas fibras tem sido o câncer de pulmão, mas após exposição ao amianto anfibólio, há relatos de uma baixa incidência de mesotelioma em ratos.

2.1 Metodologia

Compreende estudos de inalação e de exposição intraperitoneal em ratos.

As dimensões da fibra de aerossol deveriam se aproximar o máximo possível das dimensões da fibra encontradas em casos de exposição de seres humanos. Entretanto, como o fator respirabilidade é diferente entre homens e ratos, sendo que este depende principalmente do diâmetro da fibra, deve-se tomar um cuidado especial com o comprimento da fibra. Não faz sentido aumentar o comprimento da fibra do aerossol artificialmente em estudos de inalação com animais, se os seres humanos estão expostos principalmente a fibras muito mais curtas.

A carga/quantidade de fibras no pulmão e suas dimensões devem ser determinadas em momentos apropriados, durante e após a exposição. Esta providência indicará se as concentrações de exposição foram escolhidas de forma adequada e oferece uma visão do comportamento (desaparecimento, ruptura) das fibras no pulmão.

A adequação do projeto de estudo e seu desempenho devem ser verificados através de um controle positivo.

As concentrações de exposição de estudos de inalação de longo prazo em ratos deveria ser alta o suficiente de forma que torne possível excluir, com algum grau de confiança, uma potência carcinogênica semelhante àquela do amianto anfibólio. Levando-se em consideração os dados existentes sobre

inalação crônica para amianto anfibólio, a concentração de fibras, não respiráveis, deve representar, pelo menos 1000 f/ml com L> 5 μ m, 200 f/ml com L> 200μ m, e 100 f/ml com L> 200μ m. Estas concentrações representam as menores concentrações em aerossol de amianto anfibólio em estudos de inalação em ratos, que resultaram em incidência aumentada de tumores no pulmão. Se esta concentração mínima de exposição não for aplicada em um estudo de inalação crônica em ratos, a validade dos resultados não-positivos será altamente questionável.

Se por várias razões não for possível alcançar as concentrações desejadas (por exemplo, alta concentração de massa porque as fibras são razoavelmente grossas), a otimização do tamanho então não foi bem sucedida, e deve-se proceder à exposição dos animais experimentais através de injeção endotraqueal ou intraperitoneal.

[As informações sobre a carcinogenicidade em animais experimentais vem de estudos sobre fibras minerais, e sobre fibras vítreas artificiais. Muito pouco se conhece a respeito da carcinogenicidade de fibras orgânicas ou fibras de carbono.]

2.2 Sensibilidade

Todas as fibras que provaram ser carcinogênicas em estudos epidemiológicos em seres humanos, também são carcinogênicas para animais, o que foi demonstrado através de exposição por inalação ou injeção intraperitoneal.

A partir de estudos com o amianto, tornou-se aparente que a sensibilidade dos estudos de inalação em modelos murinos, a tumores de pulmão induzidos por fibra, é claramente menor do que para seres humanos. Esta assertiva vale para concentrações de exposição e carga pulmonar. Fatores que podem ser responsáveis por esta observação são as diferenças nos tamanhos dos órgãos e no tempo de vida. A pergunta para a qual ainda não temos resposta é se esta diferença em sensibilidade persistirá se a comparação for feita com base em células individuais de pulmões de ratos ou de seres humanos.

2.3 Especificidade

Várias fibras que os estudos em animais constataram que são carcinogênicas, não foram classificadas assim por estudos epidemiológicos em seres humanos. Este fato pode ser atribuído à falta de investigações epidemiológicas ou aos vários fatores que resultam em estudos não positivos (para mais detalhes, ver o grupo epidemiológico).

2.4 Concordância de órgão-alvo

Os principais alvos em termos de carcinogenicidade em seres humanos são o pulmão, a pleura e o peritôneo, enquanto que em animais experimentais, notadamente ratos, o câncer é principalmente observado no pulmão (em exposição por inalação), sendo que os mesoteliomas são raros. Assim, há uma falta de concordância parcial de órgãos alvo entre seres humanos e

ratos. Em termos de carcinogênese por substâncias químicas, a falta de concordância de órgãos alvo é principalmente uma regra e não uma exceção (IPCS, 2005).

2.5 Injeção intraperitoneal

Uma quantidade maior de fibras foi testada através de injeção intraperitoneal do que através de exposição por inalação.

Quando comparado com estudos de inalação em ratos, o teste de carcinogenicidade de fibras por injeção intraperitoneal é considerado um teste sensível. Com este sistema de teste, é possível detectar os efeitos carcinogênicos de fibras cuja potência é mais de duas ordens abaixo do que a potência da crocidolita.

Em estudos realizados através de injeção intraperitoneal, não há nenhuma indicação de que partículas granulares em si induzem tumores; assim, os fatores de confusão gerados por materiais granulados são excluídos nestes estudos. Os mecanismos de carcinogenicidade em células pulmonares após a exposição por inalação podem não ser idênticos àqueles que agem sobre células peritoneais.

A classificação em ordem de potência (por fibra) dentre aquelas já testadas através de ambas a via é, geralmente semelhante.

Em virtude da baixa sensibilidade do modelo de inalação com ratos para tumores do pulmão e mesoteliomas, a injeção intraperitoneal é uma valiosa contribuição à bateria de testes para determinar a carcinogenicidade das fibras.

Considerações chave na avaliação de evidência epidemiológica

Estudos epidemiológicos de fibras têm uma clara vantagem sobre estudos toxicológicos no sentido que eles envolvem seres humanos. Eles também têm a vantagem de estudar os efeitos desta exposição no mundo real, onde tais efeitos podem ser mitigados ou exacerbados por outros fatores. Por exemplo, há a uma interação sinergística entre o tabagismo e o amianto. [Boffetta e Vainio ???].

Apesar destas vantagens óbvias, a presença ou ausência de evidência de um risco a partir de estudos epidemiológicos nem sempre suplanta achados em contrário de estudos toxicológicos por várias razões. Freqüentemente é difícil estabelecer uma relação de causalidade apenas com base na epidemiologia, por causa da natureza não-experimental destes estudos. A falta de randomização nos estudos epidemiológicos faz com seja difícil excluir, completamente, a possibilidade de que efeitos de confusão ou quaisquer outras formas viés podem ser responsáveis por uma associação positiva encontrada em um estudo epidemiológico. Estudos negativos, ou o que deveria talvez ser mais apropriadamente chamado de estudos "não-positivos", raramente, fornecem evidência suficiente para rejeitar causalidade, se é que o fazem. A falta de evidência positiva pode ser explicada pelas limitações do projeto do estudo. Por exemplo, para fibras recentemente introduzidas, os estudos realizados com o intuito de avaliar o risco de câncer do pulmão teriam, claramente, um tempo de seguimento inadequado e portanto, não seria informativo. Estudos não-positivos ainda podem ser altamente informativos particularmente quando têm poder estatístico adequado para detectar um efeito, boas caracterizações de exposição e provavelmente não são afetados por efeitos de confusão ou qualquer outro viés. Um estudo bem conduzido com um achado não-positivo, pode no mínimo ser usado para estimar um limite superior sobre risco plausível.

Em virtude destas considerações, a interpretação de achados epidemiológicos positivos ou não-positivos precisa ser cuidadosamente analisada à luz das forças ou fraquezas do projeto do estudo. A seguir vai uma discussão de algumas das questões chaves que precisam ser levadas em consideração, particularmente no que concerne a interpretação dos achados de estudos epidemiológicos de fibras.

Poder estatístico

Apesar dos estudos epidemiológicos bem projetados fornecerem as informações mais relevantes para a avaliação dos riscos de seres humanos, a capacidade destes estudos de detectar um efeito, quando este estiver presente - geralmente denominada de poder do estudo - dependerá do tamanho do efeito, tamanho do estudo, e para efeitos com longos períodos de latência, da duração do estudo. As lições aprendidas a partir de estudos de coorte ocupacionais de trabalhadores com amianto resultaram em uma diminuição considerável de exposição a fibras no local de trabalho, desta forma espera-se que os riscos de câncer sejam detectados apenas em grandes coortes que sejam seguidas por um tempo suficientemente longo. Este fato deve ser lembrado na interpretação de estudos de coorte ocupacional que não relatam riscos aumentados para câncer do pulmão ou mesotelioma, o que é o caso das fibras que estão sendo analisadas neste documento. Estes estudos não devem ser interpretados como sendo negativos, mas sim como não-positivos. O poder estatístico destes estudos para detectar um efeito é uma consideração crucial quando estivermos interpretando até que grau a falta de evidência de efeitos carcinogênicos pode ser ou não persuasiva. Um exemplo chave desta preocupação é o estudo de empregados que trabalham com FCR, uma coorte relativamente pequena (942 empregados), jovem (média idade 51) e com um seguimento relativamente curto (tempo médio de seguimento de 21 anos) (Lemaster, 2003). O grau de adequação de um estudo, no sentido de seu poder de detectar um excesso de casos de câncer de pulmão ou mesotelioma é uma preocupação que será discutida na seção seguinte sobre FCR (ver seção...).

Adequação da avaliação de exposição:

Para estimar a exposição, normalmente coletam-se amostras de poeira ambiental. Em ambiente de trabalho, o monitoramento pessoal é feito pela montagem de um aparelho coletor de amostra em um empregado, na zona pessoal de respiração (PBZ). Em estudos epidemiológicos de fibras, uma classificação errada da exposição é um problema potencialmente sério, como em todos os estudos epidemiológicos. Os erros resultantes desta classificação errada das exposições geralmente criam um viés na relação exposição-resposta.

As amostras são analisadas em termos de números de fibras, através de diferentes métodos de contagem, como a microscopia ótica (PCOM), microscopia eletrônica de varredura (SEM), microscopia ótica de luz polarizada (PLM), e microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Para fins de contagem, uma fibra é definida como uma partícula com > 5 µm de comprimento com uma razão comprimento: diâmetro de pelo menos 3:1 ou maior e um diâmetro de < 3 µm. Este tipo de fibra é freqüentemente chamado de fibra OMS (OMS, 1996). De acordo com a regra de contagem B do Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH), a fibra é definida como qualquer partícula com > 5 µm de comprimento, e com uma razão comprimento: diâmetro de ≥5:1 e um diâmetro de < 3 µm. A diferença de contagem entre a fibra OMS e a regra de contagem 'B' do NIOSH pode ser significativa (Breysse *et al.*, 1999). As estimativas de exposição para estudos individuais podem diferir dependendo de qual a regra de contagem a ser usada. Assim, é importante levar estas diferenças em consideração nas estimativas de exposição quando estivermos comparando estudos.

Nenhum dos métodos de contagem, como por exemplo, TEM, PCOM, SEM, PLM conseguem distinguir fibras orgânicas individuais, de forma que elas são geralmente classificadas como 'outras fibras orgânicas', que incluem fibras de álcool polivinílico, fibras de celulose, e de outros materiais têxteis (roupas, lençóis, cobertores, travesseiros).

Em ambientes de trabalho as exposições são estimadas e os valores podem ser sustentados por dados do IH. A estimativa de exposição pode se basear em amostras pessoais, amostras de áreas, matrizes de trabalho ou os processos envolvidos. A maior parte do tempo as amostras constituem-se em amostras de poeiras contendo fibras respiráveis. Assim,

quando estudos epidemiológicos são avaliados, o efeito de confusão causado por outras exposições, tais como partículas de poeira e outros produtos químicos, deve ser levado em consideração. A maioria dos estudos sobre fibras indica que a exposição sofrida por instaladores e empregados encarregados de remoção é muito maior do que a exposição para trabalhadores envolvidos na área de fabricação e de processamento destas mesmas fibras. Muitas vezes uma informação direta sobre a exposição pode não estar disponível, mas os biomarcadores de exposição, se presentes, constituem-se em uma indicação útil de exposição relevante, como por exemplo, placas pleurais, no caso de exposição ao amianto.

Na avaliação da carcinogenicidade de qualquer substância em seres humanos, a informação/avaliação sobre exposição é geralmente o elo mais fraco e as fibras não são exceção a esta regra.

Exposições múltiplas e passíveis de gerar efeito de confusão

Os efeitos de confusão em estudos epidemiológicos representam um viés que ocorre quando os grupos expostos e não expostos apresentam diferentes riscos de doença, mesmo se eles não ficarem expostos a fibras (Pierce & Greenland, 2004). De forma mais geral, estes efeitos de confusão podem ocorrer quando os grupos a serem comparados (expostos e não expostos) não são completamente comparáveis. Efeitos de confusão em estudos de câncer de pulmão induzido por fibras podem ser confundidos por vários fatores, tais como tabagismo, situação sócio-econômica ou exposição a fibras, ou partículas ou a outras substâncias que não estão sendo estudadas. Estes efeitos de confusão podem introduzir um viés para qualquer direção e desta forma levar à constatação de um risco maior ou menor. Este efeito de confusão pode ser controlado através do projeto do estudo, sua análise, ou por ambos, com os recursos da randomização, restrição e pareamento (na fase de projeto) e por estratificação ou ajuste estatístico, no plano de análise.

Exposições mistas podem significar que determinada pessoa está exposta à fibra em questão, bem como a outras fibras, partículas, ou substâncias que produzem o mesmo efeito. Pode ser que a situação de exposições mistas não possa ser tratada como um problema clássico de efeito de confusão porque a exposição à fibra que está sendo objeto do estudo pode estar altamente correlacionada a exposições a outras partículas, fibras e substâncias (Cordier & Stewart, 2004). Uma análise estratificada e o uso de modelo multivariado podem não ser eficazes em situações adversas com alto grau de colinearidade entre as exposições.

6. Testes de toxicidade in vitro incluindo genotoxicidade, e geração de radicais de oxigênio

Andrea Hartwig, TU Berlin, Alemanha

Introdução

A exposição a fibras com determinadas propriedades físico-químicas está associada à indução de câncer de pulmão e mesoteliomas de pleura em seres humanos. Diversos mecanismos moleculares são considerados relevantes na carcinogênese induzida por fibras. Entre eles, citamos a genotoxicidade primária e secundária, sendo a última mediada pelos sistemas de defesa celular, assim como pela estimulação da expressão e recombinação do gene. Nos últimos anos, vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de relacionar os parâmetros de toxicidade e genotoxicidade com algumas características das fibras, tais como suas dimensões e biopersistência. Embora os sistemas *in vitro* não sejam capazes de abordar completamente os parâmetros cinéticos, como a depuração e persistência em nível de órgão, eles propiciam informações importantes sobre o modo de ação das fibras no nível celular e subcelular. E talvez, o aspecto mais importante, eles permitem a investigação dos efeitos genotóxicos primários, já que os efeitos secundários após a inflamação não ocorrem em sistemas isolados. Quando comparado à avaliação das genotoxinas solúveis, o teste de genotoxicidade das fibras apresenta algumas diferenças importantes. Assim, além das propriedades superficiais, um evento importante é a internalização das fibras pelos respectivos sistemas celulares. Embora as células ou linhas celulares de mamíferos usadas rotineiramente em testes de genotoxicidade, como por exemplo, as células de ovário de *hamster* chinês (CHO), células V79 ou células mesoteliais sejam capazes de fagocitar fibras e partículas, os linfócitos parecem ser menos adequados, pois aparentemente são incapazes de fazer a fagocitose (Jaurand, 1997).

Os resultados dos ensaios de genotoxicidade *in vitro* e também os ensaios de transformação de célula para avaliar a carcinogenicidade potencial das fibras foram resumidos anteriormente por Jaurand (Jaurand, 1996). Portanto, o presente estudo tem como objetivo resumir rapidamente os achados chave apresentados aqui e terá como enfoque primário os estudos mais recentes que têm contribuído para um entendimento mais completo da genotoxicidade das fibras.

Sistemas de teste subcelular

Diversos sistemas de testes subcelulares têm sido usados para investigar o potencial genotóxico das fibras, assim como os fatores de dano ao DNA associados às fibras. Os endpoints incluem a análise das quebras na cadeia de DNA no DNA plasmidial e também a oxidação das bases de DNA. Em geral, estes ensaios são aplicados para investigar o papel das propriedades de superfície, como o conteúdo de ferro na atividade de dano ao DNA das fibras respectivas e para esclarecer se estas propriedades podem ou não ter um valor preditivo na carcinogenicidade da fibra. Por exemplo, Brown *et al.* compararam os tipos diferentes de fibras em termos de indução de quebras na cadeia de DNA no DNA plasmidial, a formação do ácido 2,3-dihidroxibenzóico (2,3-DHBA) verificado através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPCL), aplicando o ácido salicílico como um agente de trapeamento do radical hidroxila, assim como a liberação de Fe³⁺ das fibras através da aplicação da desferrioxamina B (DSF-B), um quelante do ferro. Entre as três fibras carcinogênicas investigadas, apenas o amianto do tipo anfibólio induziu grandes quantidades de quebras nas cadeias do DNA plasmidial, enquanto tanto o amianto anfibólio como as fibras FCR-1 apresentaram liberação dos radicais hidroxila, como constatado pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). As fibras de carbeto de silício, assim como as fibras vítreas artificiais MMVF 10 não-carcinogênicas, Código 100/474 e FCR 4 não estavam ativas nos dois sistemas de testes (Brown *et*

al., 1998). Da mesma forma, os diferentes tipos de fibras MMVF e FCR não danificaram o DNA plasmidial em outros estudos (Gilmour et al., 1995; Donaldson et al., 1996). Ao investigar a formação da 8-oxo-desoxiguanina no DNA isolado, as fibras contendo ferro, como por exemplo, a crocidolita e a amosita mostraram ser as mais reativas, enquanto as fibras sem ferro, por exemplo, as fibras cerâmicas xonotlita e Tismo L, eram completamente inativas (Nejjari et al., 1993). No entanto, a elevada produção de bases hidroxiladas de DNA no timo de bezerro também foi observada no caso das fibras artificiais (ver Tabela 1 para as referências).

Sistemas de teste celular

Mutagenicidade. Os potenciais efeitos mutagênicos das fibras têm sido investigados em sistemas de teste realizados em bactérias e em mamíferos. Estudos anteriores nos sistemas de teste bacteriano revelaram resultados que eram na maioria negativos ou apenas fracos. Ao usar diversas cepas de *Salmonella typhimurium* (TA1538 - TA1535) e também várias cepas de *Escherichia coli*, não se observou nenhum aumento na freqüência da mutação com crisotila, crocidolita, amosita ou com fibras vítreas artificiais (MMVF). Entretanto, quando a *Salmonella typhimurium* TA102 sensível ao dano ao DNA induzido pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) foi utilizada, observou-se um aumento nas reversões na crocidolita UICC. Este resultado, porém, não foi observado nem no caso do crisotila UICC (Faux *et al.*, 1994) nem com tremolita (Athanasiou *et al.*, 1992). Além disso, observações mostraram que as fibras de crocidolita e MMVF-21 aumentavam significativamente as freqüências de reversão na *Salmonella typhimurium* TA 100; sendo este efeito ainda mais pronunciado nas cepas TA100/NG-54 e TA100/NG-57 com deficiência de glutationa (GSH) (Howden and Faux, 1996).

De forma similar aos sistemas de teste bacteriano, estudos anteriores em diferentes tipos de células de mamíferos revelaram não haver mutagenicidade no loco *hprt* após incubação com crisotila, crocidolita ou amosita. Entretanto, quando se usou uma linha celular híbrida humanos-*hamster* (A_L) tanto as fibras de crisotila como as de crocidolita apresentaram resultados negativos no loco *hprt* mas eram altamente mutagênicas no loco *Sl* (Hei *et al.*, 1992). As células A_L contêm uma série de cromossomos do *hamster*, assim como um único cromossomo 11 humano, que codifica uma série de antígenos na superfície da célula incluindo o Sl. Como apenas uma pequena porção do cromossomo 11 é essencial para a viabilidade celular, as grandes deleções cromossômicas envolvendo cento e quarenta milhões de bases de DNA podem ser detectadas. Quando outros tipos de fibras foram incluídos em seus estudos, as altas freqüências de mutação no loco *Sl* foram detectadas no caso da erionita e tremolita, embora as fibras FCR-1 não tenham mostrado efeitos dose-dependentes significativos (Okayasu *et al.*, 1999). Além disso, o crisotila era significativamente mutagênica no loco HLA-A autossômico nos linfócitos periféricos humanos, embora nenhuma mutagenicidade tenha sido observada no caso da crocidolita ou erionita. Entretanto, estas últimas induziram a perda de heterozigocidade (LOH) em linfócitos humanos, enquanto o crisotila neste endpoint estava inativo (Both *et al.*, 1994; Both *et al.*, 1995). Da mesma forma, observou-se que o amianto do tipo crisotila aumenta os eventos de recombinação homóloga nos fibroblastos rat2 λ, o que pode ser importante para a ativação das mutações (Lezon-Geyda *et al.*, 1996).

Quando analisados de forma conjunta, resultados dos sistemas de testes bacterianos e em mamíferos sugerem a indução de grandes deleções cromossômicas em oposição às mutações de pontos, que podem surgir da amostras reativas de oxigênio. Esta observação também é evidenciada pelos resultados de um grupo de Hei e colaboradores (Hei *et al.*, 1995; Xu *et al.*, 2002), que relataram os efeitos de proteção da superóxido dismutase (SOD), catalase e o dimetilsulfóxido (DMSO) na na mutagenicidade induzida pelas fibras nas células A_L. Além disso, freqüências de mutação similares foram obtidas da crocidolita e da quantidade de H₂O₂ induzida pelas fibras de crocidolita. Ao comparar a perda de diferentes marcadores no cromossomo 11 humano determinada pela técnica Multiplex PCR (PCR múltiplo) nesta linha celular, os tipos de mutações induzidas pela crocidolita foram similares quando comparadas àquelas induzidas pelo H₂O₂.

Danos ao DNA

Diferentes tipos de métodos têm sido utilizados para medir o dano causado ao DNA como resultado da exposição de vários tipos de células aos diversos tipos de fibras. Em geral, a quebra na cadeia de DNA é determinada pela eletroforese de células individuais (Ensaio COMETA) ou pelo teste de desdobramento alcalino. Outros endpoints incluem a 8-oxodesoxiguanosina (8-oxo-dG) quantificada pela HPLC com detecção eletroquímica. Os efeitos positivos no ensaio COMETA também foram observados no caso da fibra de crisotila e/ou crocidolita nas células epiteliais do pulmão humano (A549), células mesoteliais humanas transformadas (MeT-5A), assim como nas células mesoteliais pleurais de camundongos transformadas com o SV-40 e células mesoteliais primárias (Ollikainen et al., 1999; Wang et al., 1999; Levresse et al., 2000). No último estudo, o dano ao DNA foi mais pronunciado nas células mesoteliais primárias, quando comparadas com células mesoteliais pleurais de camundongos transformadas com o SV40; sendo que presume-se que isto se deva ao fato de que há um mecanismo de reparo mais eficiente em função do controle do ciclo celular mediado por p53 estar intacto (Levresse et al., 2000). Outros tipos de fibras produziram resultados mais variáveis (ver Tabela 1 e as referências citadas aqui). O papel da fagocitose nas células mesoteliais tem sido investigado no caso do amianto do tipo crocidolita: sendo que as quebras na cadeia de DNA determinadas pelo desdobramento alcalino aumentaram após o revestimento com a vitronectina, aumentando também a fagocitose, e diminuíram quando se adicionou a citocalasina, um inibidor da fagocitose. Os mesmos padrões foram observados no caso da oxidação intracelular (Liu et al., 2000). Da mesma forma, a citocalasina B inibiu o aumento de 8-oxo-dG induzido por crocidolita nas células humanas HL60 diferenciadas pelo acetato de miristato de forbol (Takeuchi e Morimoto, 1994). A extensão do dano oxidativo ao DNA também parece ser dependente do status do gene p53 dos respectivos tipos de células sob investigação. Assim, após exposição ao crisotila, as células mesoteliais apresentaram um aumento dose-dependente na 8-oxo-dG, embora os fibroblastos pulmonares não tenham apresentado este efeito. Embora o tratamento dos dois tipos de células tenha provocado um acúmulo de p53, somente no caso dos fibroblastos foi possível observar uma pronunciada parada do ciclo celular e indução de apoptose, não ocorrendo com as células mesoteliais (Kopin et al., 2004).

Efeitos clastogênicos

Em contraste com a ausência de mutações de ponto, muitos tipos de fibras, incluindo as fibras de amianto têm mostrado efeitos clastogênicos nas diferentes linhagens celulares. Dois sistemas de teste bem adequados para o teste de clastogenicidade das fibras são: teste de aberração cromossômica e o teste do micronúcleo *in vitro* (Speit, 2002).

Aberrações cromossômicas. Como resumido anteriormente (Jaurand, 1996; Schins, 2002; Speit, 2002), as fibras de crisotila e de crocidolita causaram dano cromossômico em vários tipos diferentes de células usadas rotineiramente em estudos de genotoxicidade, incluindo as células V79, células de ovário de hamster chinês (CHO) e células do embrião do hamster sírio (SHE). Além do mais, os resultados positivos com relação às aberrações cromossômicas foram obtidos no caso do crisotila em células mesoteliais pleurais de ratos e micronúcleos em células epiteliais brônquicas humanas. Ao comprar as diferentes fibras naturais e artificiais, descobriu-se que a produção de metáfases/telófases anormais era dependente do tamanho da partícula (comprimento > 8 μm, D < 0,25 μm): sendo que o limiar pareceu ser de 2,5 x 10⁵ fibras deste tamanho (Yegles et al., 1995). Em contraste, os efeitos nos linfócitos humanos eram mais variáveis, talvez devido à falta de fagocitose neste tipo de célula; Foi sugerido que os resultados positivos com os linfócitos podem refletir a liberação dos mediadores secundários das células fagocíticas presentes em culturas de sangue (Jaurand, 1997).

Micronúcleos. O ensaio de micronúcleos *in vitro* permite a detecção de agentes que induzem a quebra cromossômica e/ou aneuploidia. Como os micronúcleos são investigados na interfase do próximo ciclo celular, é preciso haver tempo suficiente para permitir a divisão celular. Para fazer a distinção entre os efeitos clastogênicos e aneugênicos, a

rotulação dos centrômeros com anticorpos CREST ou hibridização in situ por fluorescência (FISH) dos centrômeros tem sido aplicada. Assim, o ensaio de micronúcleo detecta mutações cromossômicas numéricas e também estruturais. Diferentes tipos de fibras de amianto têm sido testados com o ensaio de micronúcleo. Por exemplo, tanto o crisotila quanto o crocidolita causaram a indução dos micronúcleos nas células V79 e células de ovário de hamster chinês, respectivamente (Hart et al., 1994; Lu et al., 1994; Keane et al., 1999). Aumentos significativos das freqüências dos micronúcleos também foram observados nas células do embrião do hamster sírio (SHE). A coloração CREST após o tratamento com o amianto produziu um aumento nas células CREST positivas quando comparadas com o controle, indicando um efeito aneugênico (Dopp et al., 1995). Resultados similares foram obtidos na linhagem de células mesoteliais murinas primárias (D9), com um ponto de mutação obtido espontaneamente no gene p53, após incubação com crocidolita (Cistulli et al., 1996). Em células epiteliais brônquicas de seres humanos (HBE), o crisotila, mas não a crocidolita, causou uma leve indução dos micronúcleos (Kodama et al., 1993). O ensaio do micronúcleo tem sido usado para investigar o impacto de vários parâmetros das fibras. Assim, duas amostras de amianto crisotila, com fibras de comprimento curto e intermediário, tratadas ou não com um surfactante pulmonar simulado, foram comparadas nas células V79. Todas as amostras produziram aumentos significativos nas células micronucleadas e multinucleadas, sendo os efeitos mais pronunciados aqueles das fibras de amianto crisotila de comprimento intermediário não tratadas e pré-tratadas, em segundo lugar as fibras curtas de amianto crisotila e em seguida as fibras curtas de amianto crisotila pré-tratadas (Lu et al., 1994). Por outro lado, nenhuma diferença foi observada no caso das fibras de crisotila não tratadas e tratadas com ácido, na mesma linhagem celular (Keane et al., 1999). Na investigação do efeito dos queladores de metal e captadores de radical na formação de micronúcleos induzidos por fibras de crocidolita e crisotila em células mesoteliais humanas (HME), tanto o conteúdo de ferro como os radicais a base de oxigênio exercem papéis importantes (Poser et al., 2004). O ensaio de micronúcleo tem sido aplicado com sucesso para detectar os efeitos clastogênicos e também os aneugênicos dos diferentes tipos de fibras de amianto. Embora haja relatos sobre as diferenças específicas nos variados tipos de células, as culturas de linhagens celulares de roedores e também de células mesoteliais parecem ser bem adequadas. Com respeito às fibras artificiais, também há relatos de resultados predominantemente positivos, sendo que o comprimento da fibra foi reconhecido novamente como um fator importante (Tabela 1 e referências citadas aqui).

Papel das espécies reativas de oxigênio

Como indicado acima, a geração das espécies reativas de oxigênio parece exercer um papel predominante na genotoxicidade induzida por fibras. As diferentes fontes de espécies reativas de oxigênio podem contribuir com este efeito:

- Uma fonte de ERO pode ser o envolvimento do ferro na superfície das fibras, gerando uma variedade de espécies reativas de oxigênio, como o O₂, H₂O₂, OH, ¹O₂ e também os radicais peróxido lipídico
- Além disso, diversos estudos têm demonstrado aumento na produção de óxido nítrico em macrófagos de ratos e nas células epiteliais do pulmão humano (A549), que subseqüentemente reagem com o O₂ para produzir OH e o peroxinitrito (ONOO) (Park and Aust, 1998; Zhu et al., 1998). Este último causa nitração das proteínas, hidroxilação ou nitração do DNA e mutações (Juedes and Wogan, 1996).
- Fagocitose incompleta ("frustrada") de fibras longas
- Fagocitose de fibras

Conclusões e perspectivas

A presente evidência experimental demonstra o potencial genotóxico dos diferentes tipos de fibras, que é bem investigado no caso das fibras de amianto, mas não restrito à elas, especialmente nos sistemas celulares capazes de fagocitar as fibras. Isto inclui as linhagens celulares de ratos usadas rotineiramente em testes de genotoxicidade e também as células

mesoteliais afetadas *in vivo*. Porém, os estudos de culturas celulares apresentam algumas diferenças em comparação aos estudos *in vivo*. Desta forma, os períodos de tratamento aplicados variam geralmente entre 24 e 48 horas, sendo que por este motivo os eventos genotóxicos mais precoces serão detectados nos estudos *in vitro*, ao contrário das diferenças na biopersistência das fibras, podendo resultar em resultados *in vitro* comparáveis, o que não acontece com as diferenças em termos de patogenicidade nos estudos *in vivo*. Esta observação pode ter uma relevância especial em termos de efeitos relacionados às interações físicas das fibras com o aparato do fuso. Por outro lado, os efeitos *in vivo* a longo prazo, como a liberação dos mediadores inflamatórios, não serão eficazes em culturas celulares rotineiramente empregadas. Além dos parâmetros genotóxicos de avaliação final (endpoints) descritos acima, outros eventos celulares também são importantes, tais como a mitogênese, levando a uma fixação aumentada das mutações que pode, por exemplo, ser mediada pela liberação dos fatores de crescimento durante a inflamação. Entretanto, os estudos *in vitro* são valiosos para discriminar a genotoxicidade primária e secundária e para identificar mecanismos de ação. Desta forma, embora eles não possam substituir os ensaios *in vivo* a curto e longo prazo, podem - entre outros sistemas de teste - servir como ferramentas valiosas para a detecção dos efeitos adversos potenciais de novas fibras.

- Athanasiou, K., S. H. Constantopoulos, *et al.* (1992). Metsovo-tremolite asbestos fibres: *in vitro* effects on mutation, chromosome aberration, cell transformation and intercellular communication. <u>Mutagenesis</u> 7(5): 343-7
- Both, K.,D. W. Henderson, *et al.* (1994). Asbestos and erionite fibres can induce mutations in human lymphocytes that results in loss of heterozygosity. <u>Int J Cancer</u> 59(4): 538-42
- Both, K., D. R. Turner, *et al.* (1995). Loss of heterozygosity in asbestos-induced mutations in a human mesothelial cell line. Environ Mol Mutagen 26(1): 67-71.
- Brown, D. M., C. Fisher, *et al.* (1998). Free radical activity of synthetic vitreous fibres: iron chelation inhibits hydroxyl radical generation by refractory ceramic fiber. <u>J Toxicol Environ Health</u> A 53(7): 545-61.
- Cistulli, C.A., T. Sorger, *et al.*(1996). Spontaneous p53 mutation in murine mesothelial cells: increased sensitivity to DNA damage induced by asbestos and ionizing radiation. <u>Toxicol Appl Pharmacol</u> 141(1): 246-71.
- Donaldson, K., P. H. Beswick, *et al.* (1996). Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining biological activity? <u>Toxicol Lett</u> 88(1-3): 293-8
- Dopp, E., J. Saedler, *et al.* (1995). Mitotic disturbances and micronucleus induction in Syrian *hamster* embryo fibroblast cells caused by asbestos fibres. Environ Health Perspect 103(3): 268-71.
- Faux, S. P., P. J. Howden, *et al.* (1994). Iron-dependent formation of 8-hydroxydeoxyguanosine is isolated DNA and mutagenicity in Salmonella thyphimurium TA102 induced by crocidolite. Carcinogenesis 15(8): 1749-51.
- Gilmour, P. S., P. H. Beswick, *et al.* (1995). Detection of surface free radical activity of respirable industrial fibres using supercoiled phi X174 RF1 plasmid DNA. <u>Carcinogenesis</u> 16(12): 2973-9
- Hart,G. A., L. M. Kathman, *et al.* (1994). *In vitro* cytotoxicity of asbestos and man-made vitreous fibres: roles of fiber length, diameter and composition. <u>Carcinogenesis</u> 15(5):971-7
- Hei, T. K., Z. Y. He, et al. (1995). Effects of antioxidants on fiber mutagenesis. Carcinogenesis 16(7): 1573-8
- Hei, T. K., C. Q. Piao, et al.(1992). Chrysotile fiber is a strong mutagen in mammalian cells. Cancer Res 52(22): 6305-9.
- Howden, P. J. and S. P. Faux (1996). Gluthatione modulates the formation of 8- hydroxydeoxyguanosine in isolated DNA and mutagenicity in Salmonella thyphimurium TA100 induced by mineral fibres. <u>Carcinogenesis</u> 17(10): 2275-7
- Jaurand, M. C. (1996). Use of in-vitro genotoxicity and cell transformation assays to evaluate the potential carcinogenicity of fibres. <u>IARC Sci Publ</u> (140): 55-72.
- Jaurand, M. C. (1997). Mechanisms of fiber-induced genotoxicity. Environ Health Perspect 105 Suppl 5: 1073-84.
- Juedes, M. J. and G. N. Wogan (1996). Peroxynitrite-induced mutation spectra of pSP189 following replication in bacteria and in human cells. Mutat Res 349(1): 51-61.
- Keane, M. J., J. W. Stephens, *et al.* (1999). A study of the effect of chrysotile fiber surface composition on genotoxicity *in vitro*. <u>J Toxicol Environ Health A</u> 57(8): 529-41.
- Kodama, Y., C. J. Boreiko, *et al.* (1993). Cytotoxic and cytogenetic effects of asbestos on human bronchial epithelial cells in culture. <u>Carcinogenesis</u> 14(4): 691-7.
- Kopnin, P. B., I. V. Kravchenko, *et al.* (2004). Cell type-specific effects of asbestos on intracellular ROS levels, DNA oxidation and G1 cell cycle checkpoint. <u>Oncogene</u> 23(54): 8834-40.
- Levresse, V., A. Reiner, *et al.* (2000). DNA breakage in asbestos-treated normal and transformed (TSV40) rat pleural mesothelial cells. <u>Mutagenesis</u> 15(3): 239-44.
- Lezon-Geyda, K., C. M. Jaime, *et al.* (1996). Chrysotile asbestos fibers mediate homologus recombination in Rat2 lambda fibroblasts: implications for carcinogenesis. <u>Mutat Res</u> 361(2-3): 113-20
- Liu, W., J. D. Ernest, *et al.* (2000). Phagocytosis of crocidolite asbestos induces oxidative stress, DNA damage, and apoptosis in mesothelial cells. <u>Am J Respir Cell Mol Biol</u> 23 (3): 371-8.
- Lu, J., M. J. Keane, *et al.* (1994). *In vitro* genotoxicity studies of chysolite asbestos fibers dispersed in simulated pulmonary surfactant. <u>Mutat Res</u> 320(4): 253-9.
- Nejjari, A., J. Fournier, *et al.* (1993). Mineral fibres: correlation between oxidizing surface activity and DNA base hydroxylation. <u>Br J Ind Med</u> 50 (6): 501-4.
- Okayasu, R., L. Wu, *et al.* (1999). Biological effects of naturally occurring and manmade fibres: *in vitro* cytotoxicity and mutagenesis in mammalian cells. <u>Br J Cancer</u> 79(9-10): 1319-24.
- Ollikainen, T., K. Linnainmaa, *et al.* (1999). DNA single strand breaks induced by asbestos fibers in human pleural mesothelial cells *in vitro*. Environ Mol Mutagen 33(2): 153-60.
- Park, S. H. and A. E. Aust (1998). Regulation of nitric oxide synthase induction by iron and glutathione in asbestos-treated human lung epithelial cells. Arch Biochem Biophys 360(1): 47-52.
- Poser, I., Q. Rahman, *et al.* (2004). Modulation of genotoxic effects in asbestos-exposed primary human mesothelial cells by radical scavengers, metal chelators and a glutathione precursor. Mutat Res 559(1-2): 19-27.
- Schins, R. P. (2002). Mechanisms of genotoxicity of particles and fibers. Inhal Toxicol 14(1): 57-78.
- Speit, G. (2002). Appropriate in vitro test conditions for genotoxicity testing of fibers. Inhal Toxicol 14(1) 79-90.
- Takeuchi, T. and K. Morimoto (1994). Crocidolite asbestos increased 8-hydroxydeoxyguanosine levels in cellular DNA of a human promyelocytic leukemia cell line, HL60. <u>Carcinogenesis</u> 15(4): 635-9.
- Wang, Q. E., C. H. Han, *et al.* (1999). Biological effects of man-made mineral fibers (II)- their genetic damages examined by *in vitro* assay. Ind Health 37(3): 342-7.
- Xu, A., H. Zhou, *et al.* (2002). Mechanisms of the genotoxicity of crocidolite asbestos in mammalian cells: implication from mutation patterns induced by reactive oxygen species. <u>Environ Health Perspect</u> 110(10): 1003-8.

- Yegles, M., X. Janson, et al. (1995). Role of fibre characteristics on cytotoxicity and induction of anaphase with in vivo animal findings. <u>Carcinogenesis</u> 16(11): 2751-8.
 Zhu, S., M. Manuel, et al. (1998). Contribution of reactive oxygen and nitrogen species to particulate-induced lung injury. <u>Environ Health Perspect</u> 106 Suppl 5: 1157-63.

Parte 1.6 Tabela

Estudos de genotoxicidade in vitro com diferentes tipos de fibras

Andrea Hartwig, TU Berlin, Alemanha

<u>Endpoint</u>	Fibra	Variação de dose	Sistema experimental	Efeito	Referência
Danos ao DNA em sistemas de teste		uose	experimental		
subcelular	Fibras longas amosita amianto	9,2 x 10 ⁵	Danos ao DNA no DNA plasmidial; atividade de radicais livres verificados através de trapeamento por rotação	+	(Brown et al., 1998)
	Fibras de cerâmica refratária (FCR1)	9,2 x 10 ⁵	Danos ao DNA no DNA plasmidial; atividade de radicais livres verificados através de trapeamento por rotação	+	(Brown et al., 1998)
	SiC, FCR4, MMVF10, Código 100/475	9,2 x 10 ⁵	Danos ao DNA no DNA plasmidial; atividade de radicais livres verificados através de trapeamento por rotação	-	(Brown et al., 1998)
	Fibra longa amianto amosita, Crocidolita	$6.2 - 12.3 \times 10^5$	Danos ao DNA no DNA plasmidial	+	(Gilmour et al., 1995) (Donaldson et al., 1996; Gilmour et al., 1997)
	Fibra curta amianto amosita	$6,2 - 12,3 \times 10^5$	Danos ao DNA no DNA plasmidial	(+)	(Gilmour <i>et al.</i> , 1995)
	MMVF10, MMVF11, MMVF21, MMVF22, FCR1, FCR2 FCR3, FCR4	?	Danos ao DNA no DNA plasmidial;	-	(Gilmour <i>et al.</i> , 1995) (Donaldson <i>et al.</i> , 1996)
	MMVF10, FCR1	Fibras 9,3 x 10 ⁵	Danos ao DNA no DNA plasmidial	(+)	(Gilmour <i>et al.</i> , 1997)

	A mianta	1 ma/1	Ovidoses de	,	(Naiiori -4 -1
	Amianto amosita, crocidolita, Antofilita,	1 mg/ml em tubo de ensaio	Oxidação de desoxiguanosina	+	(Nejjari <i>et al.</i> , 1993)
	lã mineral de rocha, wolastonita				
	Crisotila, crocidolita, amianto amosita	5 mg	Formação de 8- oxo-dG no DNA do timo de bezerros	+	(Adachi <i>et al.</i> , 1992)
	Atapulgita, Sepiolita, Fibra de vidro, Whisker de titanato de potássio, Whisker de MgSO ₄ básico, Whisker de CaSO ₄ Polímero de metafosfato	5 mg	Formação de 8- oxo-dG no timo de bezerros na presença de H ₂ O ₂	(com exceção de whiskers de MgSO ₄ e CaSO ₄ , observa-se aumento de dano ao DNA após o acréscimo de FeSO ₄)	(Adachi <i>et al.</i> , 1992)
	Crocidolita, MMVF-21	0,1 – 5 mg/ml	Formação de 8- oxo-dG no DNA do timo de bezerros	+ (efeito mais forte no caso de crocidolita; efeito de proteção de GSH)	(Howden e Faux, 1996)
Danos ao DNA nas células					
HMC	Crocidolita, crisotila	3 μg/cm ²	Quebra na cadeia de DNA (ensaio COMETA, desdobramento alcalino)	+	(Burmeister et al., 2004)
MeT-5A MSTO	Crocidolita, crisotila	3 μg/cm ²	Quebra na cadeia de DNA (ensaio COMETA, desdobramento alcalino)	-	(Burmeister <i>et al.</i> , 2004)
HMC, MeT-5A MSTO	Crocidolita, crisotila	3 μg/cm ²	Sítios sensíveis ao Fpg determinados por desdobramento alcalino	-	(Burmeister et al., 2004)
RPMC, RPMC-TSV40	Crisotila crocidolita,	0,5 – 10 μg/cm ²	Quebra na cadeia de DNA (ensaio COMETA)	+ (crisotila > crocidolita; células primárias > transformadas com o SV-40)	(Levresse et al., 2000)

MeT-5A	Amianto crocidolita, FCR	$2-10\mu\text{g/cm}^2$	Danos ao DNA determinados por	+	(Cavallo <i>et al.</i> , 1994)
	crocidonta, rex		um ensaio COMETA		(Ollikainen <i>et al.</i> , 1999)
	Lã de vidro, Lã mineral de rocha, lã de rocha solúvel ("Dinamarquesa")	$2-10 \mu\text{g/cm}^2$	Danos ao DNA determinados por um ensaio COMETA	Aumento não- significativo	(Cavallo <i>et al.</i> , 1994)
	Amianto crocidolita, Lã mineral de rocha	2 – 10 μg/cm ²	Sítios sensíveis ao Fpg determinados por ensaio COMETA	+ (no caso de Lã mineral de rocha, as diferenças em relação às outras fibras consideradas negativas não são muito óbvias)	(Cavallo <i>et al.</i> , 2004)
HL60 diferenciado	Crocidolita	15 – 150 μg/ml	8-oxo-dG	+	(Takeuchi e Morimoto, 1994)
J774	Crocidolita, Amosita	10 – 100 μg/ml	8-oxo-dG	+	(Murata-Kamiya et al., 1997)
J774	Crisotila, Fibras de cerâmica, Fibras de vidro, Octatitanato de potássio	100 μg/ml	8-oxo-dG	-	(Murata-Kamiya et al., 1997)
RPM	Crocidolita	1.5 and 10 μg/cm ²	8-oxo-dG	+	(Fung <i>et al.</i> , 1997)
MET-5A	Crocidolita	1.5 e 10 μg/cm ²	8-oxo-dG	Diminuição	(Fung <i>et al.</i> , 1997)
RPMC, fibroblastos de pulmão de ratos	Crisotila canadense B	5 e 10 μg/cm ²	8-oxo-dG	+ (células mesoteliais) - (fibroblastos)	(Kopnin <i>et al.</i> , 2004)
CHO, xrs-5	Crisotila	8 e 16 μg/cm ²	Quebra na cadeia dupla de DNA	+	(Okayasu <i>et al.</i> , 1999)
RPMC	Amianto crisotila	500 μg/ml	Síntese da poli- (ADP-ribose) como indicador de quebras na cadeia de DNA	+	(Dong et al., 1995)

RFL-6	Crocidolita, MMVF-	5 μg/cm ² ,	Adutos de DNA	+	(Howden e Faux,
KI L-U	21	$2-5 \mu\text{g/cm}^2$	derivados de	(negativo quando o	1996)
		2 3 με/οιι	peroxidação de	ferro é removido)	
			lipídios	ŕ	
RFL-6	Crocidolita, FCR-1	$2-5 \mu \text{g/cm}^2$	Adutos de DNA	-	(Howden e Faux,
			derivados de		1996)
			peroxidação de		
3.5			lipídios		/TT 11
Macrófagos	Amianto	1 - 15	Quebras na	+	(Kovacikova et
alveolares, células	amosita, fibras de vidro,	μg/cm ²	cadeia de DNA, (ensaio	(qualquer que seja o tipo de fibra)	al., 2004)
epiteliais tipo II	lã de mineral de		COMETA)	o upo de fibra)	
	rocha.		COMETA)		
	wolastonita				
	(mesmo tamanho)				
A549	Crisotila,	40 μg/cm ²	Quebras na	+ (efeito mais	(Wang et al.,
110.5	Lã de vidro,	1 1 1 1	cadeia de DNA,	fortes para	1999)
	Lã mineral de rocha,		crosslinks DNA-	crisotila, efeitos	
	Microfibras de		DNA	ligeiramente mais	
	vidro, Fibra de			fracos no caso de	
	cerâmica refratária			todas as outras	
	RF1 e RF2, RF3,			fibras)	
	Whisker de titanato				
	de potássio, Whisker de carbeto				
	de silício,				
	Whisker de óxido de				
	titânio, Wolastonita				
Mutagenicidade	trumo, wordstormer				
Salmonella	Crocidolita	1 – 1000	Reversões	+	(Faux et al.,
typhimurium		μg/placa		(reduzido ou	1994)
TA102				completamente	
1A102				diminuído por	
				queladores de ferro	
				e captadores de	
	0 111	0.1 0.27	D ~	radical)	/II 1 F
Salmonella	Crocidolita,	0,1 ou 0,25	Reversões	+	(Howden e Faux,
typhimurium	Crisotila, MMVF-21	mg.		(efeito mais fraco no caso da	1996)
TA100,		fibra/placa		crisotila; proteção	
TA100/NG54,				por GSH)	
TA100/NG57				por GBII)	
111100/1100/	<u> </u>	l	<u> </u>	1	<u>l</u>

Parte 1.6; Hartwig 5 Redação preliminar 2

Linhagem celular	Crisotila,	$2 - 40 \mu g/ml;$	Mutagenicidad	+	(Hei et al., 1992;
híbrida humanos-	crocidolita	$4 \mu \text{g/cm}^2$	e no loco S1,	(grandes deleções;	Hei et al., 1995;
monda namanos			loco CD59	efeito de proteção	Xu et al., 1999;

hamster (A _L) Linhagem celular híbrida humanos- hamster (A _L)	Tremolita, erionita, FCR-1	$2-40 \mu \text{g/cm}^2$	Mutagenicidad e no loco S1	de catalase e SOD; aumenta após pré- tratamento com BSO) + (erionita, tremolita)	Xu et al., 2002) (Okayasu et al., 1999)
Linfócitos humanos, linhagem celular de mesotelioma humano	Crocidolita, erionita	50 ou 400 μg/ml	Perda de heterozigocida de (LOH)	(FCR-1) + (Erionita, crocidolita) - (crisotila)	(Both et al., 1994; Both et al., 1995)
Fibroblastos Rat2λ	Crisotila	500 μg	Recombinações homólogas mutações no gene <i>lacI</i>	+	(Lezon-Geyda et al., 1996)
Clastogenicidade Células do líquido amniótico humano	Amianto amosita, crisotila, crocidolita, fibras de cerâmica	$5 - 10 \mu\text{g/cm}^2$	Micronúcleos	+ (MN positivos e negativos para cinetocoro); efeito semelhante para todas as fibras	(Dopp et al., 1997)
Células do líquido amniótico humano	Amianto amosita, crisotila, crocidolita, fibras de cerâmica	$5-10 \mu\text{g/cm}^2$	Quebras cromossômicas	+ (efeito semelhante para todas as fibras)	(Dopp et al., 1997)
Células do líquido amniótico humano	Amianto amosita, crisotila, crocidolita, fibras de cerâmica	5 – 10 μg/cm ²	Hiperploidia	+ (efeito semelhante para todas as fibras)	(Dopp et al., 1997)

HMC	Crocidolita,	$0.25 - 5 \mu \text{g/cm}^2$	Micronúcleos	+	(Poser et al.,
	crisotila	0,23 3 μg/em	1/1101011000	(no caso de	2004)
				crocidolita,	,
				diminuição de	
				danos através de	
				quelação de ferro,	
				por ácido fítico e	
				deferoxamina;	
				captadores de	
				radical foram	
				eficazes na	
				redução dos danos	
				causados pelos	
				dois tipos de fibra)	
V79	Crisotila	$2 - 100 \mu \text{g/cm}^2$	Micronúcleos	+	(Keane et al.,
		, 0		(nenhum impacto	1999)
				da alteração de	
				superfície por	
				tratamento com	
				HCl	
СНО	Vidro fibroso,	$5-30 \mu\text{g/cm}^2$	Núcleos	+	(Hart et al.,
	fibras de cerâmica		anormais	(forte dependência	1994)
	refratária, fibra de		(MN, PN)	no comprimento da	
	vidro MMVF10 e			fibra, mas não	
	MMVF11, lã			dependente da	
	mineral de rocha			composição da	
	MMVF21, lã de			fibra)	
	escória MMVF22,				
	crocidolita,				
* 750	crisotila	0 00 1 1	Managed		(0):
V79	3 tipos de fibras de	$0 - 80 \mu g/ml$	Micronúcleos	(INIC) and the second	(Ong <i>et al.</i> ,
	vidro de		(predominanteme	(INS; comprimento médio de fibra 98	1997)
	comprimentos diferentes		nte MN positivos para cinetocoro)		
	unerentes		para cinetocoro)	μM)	
				(AAA 10 IM 100:	
				(AAA-10, JM 100; comprimento	
				médio da fibra 2 e	
				3,5 µM,	
				respectivamente	

V79	Crisotila	100 – 200 μg/ml	aberrações estruturais cromossômicas, SCEs	+ (tempo e dose dependente; tempo de tratamento até 90 dias)	(Trosic <i>et al.</i> , 1997)
SHE, AFC	Amosita, crisotila, crocidolita, fibras de cerâmica	$1-10\mu\text{g/cm}^2$	Micronúcleos MN positivo para cinetocoro; FISH	+	(Dopp e Schiffmann, 1998)
Linfócitos humanos		6,3 – 400 μg/ml	Aberrações cromossômicas	-	(Warheit <i>et al.</i> , 2001)

¹(+) efeito fraco

AFC, células do líquido amniótico humano; HMC, células mesoteliais humanas; Linhagem de células murinas J744; MSTO, mesotelioma humano; RPMC, células de mesotelioma de pleura de ratos;

Bibliografia

- Adachi, S., K. Kawamura, *et al.* (1992). Oxidative damage on DNA induced by asbestos and man-made fibers *in vitro*. Int Arch Occup Environ Health 63(8): 553-7.
- Both, K., D. W. Henderson, *et al.* (1994) asbestos and erionite fibres can induce mutations in human lymphocytes that result in loss of heterozygosity. <u>Int J Cancer</u> 59(4): 538-42.
- Both, K., D. R. Turner, *et al.* (1995). Loss of heterozygosity in asbestos-induced mutations in a human mesothelioma cell line. Environ Mol Mutagen 26(1): 67-71.
- Brown, D. M., C. Fisher, *et al.* (1998). Free radical activity of synthetic vitreous fibers: iron chelation inhibits hydroxyl radical generation by refractory ceramic fiber. J Toxicol Environ Health A 53(7): 545-61.
- Burmeister, B., T. Schwerdtle, *et al.* (2004). Effects of asbestos on initiation of DNA damage, induction of DNA-strand breaks, P53-expression and apoptosis in primary, SV40-transformed and malignant human mesothelial cells. <u>Mutat</u> Res 558(1-2): 81-92.
- Cavallo, D., A. Campopiano, *et al.* (2004). Cytotoxic and oxidative effects induced by man-made vitreous fibers (MMVFs) in a human mesothelial cell line. <u>Toxicology</u> 201(1-3): 219-29.
- Donaldson, K., P. H. Beswick, *et al.* (1996). Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining biological activity? <u>Toxicol Lett</u> 88(1-3): 293-8.
- Dong, H. Y., A. Buard, *et al.* (1995). Synthesis of poly(ADP-ribose) in asbestos treated rat pleural mesothelial cells in culture. Mutat Res 331(2): 197-204.
- Dopp, E. and D. Schiffmann (1998). Analysis of chromosomal alterations induced by asbestos and ceramic fibers. <u>Toxicol</u> Lett 96-97: 155-62.
- Dopp, E., M. Schuler, *et al.* (1997). Induction of micronuclei, hyperdiploidy and chromosomal breakage affecting the centric/pericentric regions of chromosomes 1 and 9 in human amniotic fluid cells after treatment with asbestos and ceramic fibers. <u>Mutat Res</u> 377(1): 77-87.
- Faux, S. P., J. Howden, *et al.* (1994). Iron-dependent formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in isolated DNA and mutagenicity in Salmonella typhimurium TA102 induced by crocidolite. <u>Carcinogenesis</u> 15(8): 1749-51.

Parte 1.6; Hartwig 8 Redação preliminar 2

- Gilmour, P. S., P. H. Beswick, *et al.* (1995). Detection of surface free radical activity of respirable industrial fibres using supercoiled phi X174RF1 plasmid DNA. Carcinogenesis 16(12): 2973-9.
- Gilmour, P. S., D. M. Brown, *et al.* (1997). Free radical activity of industrial fibers: role of iron in oxidative stress and activation of transcription factors. Environ Health Perspect 105 Suppl 5: 1313-7.
- Hart, G. A., L. M. Kathman, *et al.* (1994). *In vitro* cytotoxicity of asbestos and man-made vitreous fibers: roles of fiber length, diameter and coposition. <u>Carcinogenesis</u> 15(5): 971-7.
- Hei, T. K., Z. Y. He, et al. (1995). Effects of antioxidants on fiber mutagenesis. Carcinogenesis 16(7): 1573-8.
- Hei, T. K., C. Q. Piao, et al. (1992). Chrysotile fiber is a strong mutagen in mammalian cells. Cancer Res 52(22): 6305-9.
- Howden, P. J. and S. P. Faux (1996). Fibre-induced lipid peroxidation leads to DNA adduct formation in Salmonella typhimurium TA 104 and rat lung fibroblasts. <u>Carcinogenesis</u> 17(3): 413-9.
- Howden, P. J. and S. P. Faux (1996). Glutathione modulates the formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in isolated DNA and mutagenicity in Salmonella typhimurium TA100 induced by mineral fibres. Carcinogenesis 17(10): 2275-7.
- Keane, M. J., J. W. Stephens, *et al.* (1999). A study of the effect of chrysotile fiber surface composition on genotoxicity *in vitro*. <u>J Toxicol Environ Health A</u> 57(8): 529-41.
- Kopnin, P. B., I. V. Kravchenko, *et al.* (2004). Cell type-specific effects of asbestos on intracellular ROS levels, DNA oxidation and G1 cell cycle checkpoint. <u>Oncogene</u> 23(54): 8834-40.
- Kovacikova, Z., H. Petrovska, *et al.* (2004). The effect of fibrous dusts on lung cells. *In vitro* study. <u>Center Eur J Public Health</u> 12 Suppl: S44-8.
- Levresse, V., A. Renier, *et al.* (2000). DNA breakage in asbestos-treated normal and transformed (TSV40) rat pleural mesothelial cells. Mutagenesis 15(3): 239-44.
- Lezon-Geyda, K., C. M. Jaime, *et al.* (1996). Chrysotile asbestos fibers mediate homologous recombination in Rat2 lambda fibroblasts: implications for carcinogenesis. Mutat Res 361(2-3): 113-20.
- Murata-Kamiya, N., T. Tsutsui, *et al.* (1997). Determination of carcinogenic potential of mineral fibers by 8-hydroxydeoxyguanosine as a market of oxidative DNA damage in mammalian cells. <u>Int Arch Occup Environ Health</u> 70(5): 321-6.
- Nejjari, A., J. Fournier, *et al.* (1993). Mineral fibres: correlation between oxidising surface Activity and DNA base hydroxylation. Br J Ind Med 50(6): 501-4.
- Okayasu, R., S. Takahashi, et al. (1999). Asbestos and DNA double strand breaks. Cancer Res_59(2): 298-300.
- Okayasu, R., L. Wu, *et al.* (1999). Biological effects of naturally occurring and man-made fibres: *in vitro* cytotoxicity and mutagenesis in mammalian cells. <u>Br J Cancer</u> 79(9-10): 1319-24.
- Ollikainen, T., K. Linnainmaa, *et al.* (1999). DNA single strand breaks induced by asbestos fibers in human pleural mesothelial cells *in vitro*. Environ Mol Mutagen 33(2): 153-60.

Parte 1.6; Hartwig 9 Redação preliminar 2

- Ong. T., Y. Liu, *et al.* (1997). Induction of micronucleated and multinucleated cells by man-made fibers *in vitro* in mammalian cells. J Toxicol Environ Health 50(4): 409-14.
- Poser, I., Q. Rahman, *et al.* (2004). Modulation of genotoxic effects in asbestos-exposed primary human mesothelial cells by radical scavengers, metal chelators and a glutathione precursor. <u>Mutat Res</u> 559(1-2): 19-27.
- Takeuchi, T. and K. Morimoto (1994). Crocidolite asbestos increased 8-hydroxydeoxyguanosine levels in cellular DNA of a human promyelocytic leukemia cell line, HL60. Carcinogenesis 15(4): 635-9.
- Trosic, I., V. Brumen, et al. (1997). In vitro assessment of asbestos fibers genotoxicity. Zentra1bl Hyg Umweltmed 199(6): 558-67.

- Wang, Q. E., C. H. Han, *et al.* (1999). Biological effects of man-made mineral fibers (II)-- their genetic damages examined by *in vitro* assay. <u>Ind Health</u> 37(3): 342-7.
- Warheit, D. B., M. Donner, *et al.* (2001). P-Aramid RFP do not induce chromosomal aberrations in a standardized *in vitro* genotoxicity assay using human lymphocytes. <u>Inhal Toxicol</u> 13(12): 1079-91.
- Xu, A., L. J. Wu, *et al.* (1999). Role of oxyradicals in mutagenicity and DNA damage induced by crocidolite asbestos in mammalian cells. <u>Cancer Res</u> 59(23): 5922-6.
- Xu, A., H. Zhou, *et al.* (2002). Mechanisms of the genotoxicity of crocidolite asbestos in mammalian cells: implication from mutation patterns induced by reactive oxygen species. <u>Environ Health Perspect</u> 110(10): 1003-8.

Revisão I

Propriedades físico-químicas e biopersistência

(definições; relevância em termos da carcinogenicidade do composto)

1. Composição química: origem, pureza, variabilidade dos componentes, cristalinidade e área de superfície

As fibras propostas como substitutas do amianto crisotila constituem um grupo química e estruturalmente heterogêneo que pode ser dividido em vários conjuntos, conforme sua natureza (orgânica ou inorgânica) e sua origem (natural ou artificial). Sua composição química é um fator chave que influencia sua estrutura e as propriedades físico-químicas, tais como área de superfície, reatividade de superfície, solubilidade etc. Deve-se dar atenção não só à composição química das fibras, seus elementos principais e residuais, mas também aos contaminantes ou elementos agregados, incluindo sua especiação.

A composição química das fibras deve ser estabelecida de forma muito precisa, particularmente na presença de elementos de possível especiação, como partículas tóxicas *in vivo* (por exemplo, cromo-arsênico etc.) ou que podem estar associados a efeitos carcinogênicos (por exemplo, presença de Fe no amianto). Estes elementos, bem como outras substâncias, podem ser incorporados durante a produção industrial de fibras sintéticas ou podem se apresentar de forma natural nas fibras minerais. No caso das fibras naturais, os minerais acessórios ou contaminantes podem estar associados a um potencial carcinogênico (por exemplo, quartzo).

A cristalinidade influencia a reatividade de superfície e a solubilidade, pois os materiais cristalinos são mais estáveis (menos solúveis) do que seus equivalentes amorfos. Os minerais fibrosos freqüentemente apresentam uma estreita gama em termos de composição química. Entretanto, elementos residuais potencialmente perigosos podem estar presentes.

Fibras vítreas sintéticas a base de sílica são amorfas e têm composição variável. Além da sílica, seu principal componente, outros elementos podem estar presentes em proporções variáveis: Al, Mg, Ca, Na, K Fe etc. A composição química geral é um parâmetro chave para o controle da solubilidade e da reatividade de superfície, bem como outras propriedades físicas ou mecânicas examinadas abaixo.

Vários esquemas de classificação já foram propostos, com base em alguns fatores, tais como a origem do material (óxidos puros (lã de vidro) vs. minerais (lã mineral de rocha)), a razão entre sílica e alumina, ou seu uso. A grande variabilidade na composição torna complicada uma classificação coerente. Devido à sobreposição dos seus constituintes e suas propriedades físico-químicas, as fibras vítreas a base de sílica eram consideradas como uma classe separada. Foram feitas algumas recomendações a respeito de membros específicos desta classe conforme sua composição, propriedades físicas e biopersistência.

A superfície específica dos vários tipos de fibra pode ser diferente, de maneira que a mesma exposição ou dosagem expressa em massa corresponde a uma área de superfície diferente. Efeitos relacionados à superfície devem ser comparados tendo como base unidades de superfície.

Relevância para a carcinogenicidade

Liberação de elementos carcinogênicos de especiação, presença na superfície da fibra, de elementos reconhecidamente carcinogênicos (por exemplo, ferro no amianto).

2. Material bruto, exposição e material para testes biológicos

Para muitos materiais fibrosos, o material bruto não pode ser utilizado para estudos de inalação, por várias razões. Por exemplo, as fibras brutas podem ser grossas ou longas demais para serem respiradas pelas espécies usadas no experimento. Portanto, as fibras às vezes precisam ser processadas. As fibras podem também conter ligantes que evitam a formação de aerossol. Para produzir fibras respiráveis a partir de fibras orgânicas, tratamentos especiais, tais como a remoção da lignina de fibras de celulose talvez sejam necessários.

Relevância para a carcinogenicidade

Preparos diferentes podem produzir resultados diferentes em testes in vivo.

3. Dimensão e depósito de fibras

A quantidade de fibras retidas no pulmão é o resultado líquido da quantidade depositada menos a quantidade depurada. A fração das partículas inaladas depositadas nas vias respiratórias pode ser calculada a partir de seu diâmetro aerodinâmico definido como o diâmetro geométrico de uma esfera de densidade unitária que tem a mesma partícula de sedimentação terminal que a partícula em questão. Em geral, partículas inaladas que têm um grande diâmetro aerodinâmico são predominantemente depositadas nas vias respiratórias superiores e aquelas com diâmetro aerodinâmico pequeno tendem a ser depositadas na região pulmonar (alveolar). O diâmetro aerodinâmico (D_A) das fibras é calculado pela fórmula (Stöber, 1972):

Por conseguinte, o diâmetro estabelece o diâmetro aerodinâmico de forma mais precisa, do que o comprimento da fibra, e, portanto, o local onde será depositada nas vias respiratórias.

Um modelo adicional do depósito alveolar das fibras indica que uma razão de aspecto crescente é seguida por uma fração de depósito decrescente. Como o depósito das fibras inaladas também depende dos parâmetros anatômicos e fisiológicos de uma dada espécie, este modelo mostra que existe uma diferença significativa interespécie, em termos de deposição alveolar; comparado a ratos e *hamsters*, vemos que no trato respiratório humano há fibras maiores e em maior quantidade. Nos ratos e *hamsters*, quase não há deposição alveolar quando o diâmetro aerodinâmico das fibras ultrapassa 3,5 μ m e a razão de aspecto é >10. Em seres humanos, ocorre uma considerável deposição alveolar mesmo quando o diâmetro aerodinâmico das fibras chega a 5 μ m. Levando-se em conta parâmetros fisiológicos adicionais (volume por minuto; área de superfície do epitélio alveolar) estimou-se que para uma dada concentração inalada de fibras com $D_A = 2$ μ m e uma razão de aspecto 20, a dosagem por área de superfície do pulmão é cerca de 10 vezes maior em seres humanos do que em ratos (IARC, 2002).

Estudos de injeção e inalação mostraram que as fibras mais longas, finas e mais duráveis tinham maior potencial carcinogênico (Stanton & Wrench, 1972; Pott & Friedrichs, 1972; Roller *et al.* 1996; Davis *et al.*, 1986). Entretanto, estudos de inalação são muito menos convincentes (Wardenbach *et al.*, 2005). Tomando por base dados humanos, concluiu-se que mesoteliomas estavam correlacionados com a quantidade de fibras com > 5 μm de comprimento e < 0,1 μm de diâmetro, e câncer de pulmão com a quantidade de fibras com > 10 μm de comprimento e > 0,15 μm de diâmetro (Lippmann, 1988). Estas dimensões de fibras também foram usadas para avaliar os riscos para a saúde de MMVF (man made vitreous fibers-fibras vítreas sintéticas) (Lippmann, 1990). Entretanto, com base na análise de tecido de casos de mesotelioma e levando-se em conta aspectos metodológicos (limite de detecção), outros afirmam que fibras de amianto de qualquer comprimento contribuem para respostas patológicas (Suzuki & Yuen, 2001; Suzuki & Yuen, 2002; Dodson *et al.*, 2003).

Relevância para a carcinogenicidade

Pode-se presumir que existe uma variação contínua no potencial carcinogênico da fibra respirável, que aumenta com seu comprimento.

4. Solubilidade e reatividade de superfície

O papel da solubilidade e da reatividade de superfície em termos de carcinogenicidade de fibra é amplamente discutido por Kane *et al.* (IARC Publicação Científica 140, 1996) e em revisões recentes (IARC 2002; ILSI, 2005). Resumimos abaixo os pontos principais:

- diferenças na solubilidade em água, fluidos biológicos e in vivo

a solubilidade não é regulada apenas pelo solvente, mas também pelos solutos, que podem adsorver e/ou remover seletivamente alguns componentes da fibra, favorecendo sua degradação. Desta forma, a solubilidade em fluidos corporais e *in vivo* é, com freqüência, muito maior do que a solubilidade química na água.

- composição química e solubilidade

os componentes iônicos da fibra (por exemplo, íons alcalinos e óxido alcalino-terroso nas fibras vítreas) favorecem a solubilidade enquanto outros componentes (por exemplo, alumínio) diminuem a solubilidade. Cadeias de carbono poliméricas estáveis produzem menos materiais solúveis mas em alguns casos elas podem sofrer clivagem enzimática *in vivo*.

- reatividade de superfície em relação à geração de radicais livres, hidrofilicidade/fobicidade, revestimento de fibra e adsorção de proteína

a composição de superfície regula a absorção da fibra, adsorção de proteínas, geração de radicais livres e liberação de íons metálicos, implicados em processos patogênicos (Fubini *et al.*, 1998). A presença de ferro na superfície da fibra exerce um papel crucial na maioria dos processos acima (Hardy & Aust, 1995; Kamp & Weitzman, 1999).

O ferro pode fazer parte da composição química das fibras, já que está presente na maior parte do amianto do tipo anfibólio e em lãs de escória e de rocha, pode estar presente como substituto de íons similares (Mg²⁺ no amianto crisotila), ou pode estar presente como impureza endógena ou adquirida do meio ambiente (Fubini & Otero-Arean, 1999). Nem todos os tipos de ferro são igualmente ativos (Gulumian *et al.*, 1999; Fenoglio *et al.*, 2001), e os óxidos de ferro em pó, por sua vez, são totalmente inativos (Fubini & Mollo, 1995).

Radicais livres derivados de fibras são produzidos - mesmo que apenas vestígios - em centros ferruginosos na superfície da fibra. Espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) também são produzidas após o contato fibra-célula *in vitro* e *in vivo*. Espécies reativas geradas por fibra e geradas por célula podem, subsequentemente, reagir.

O grau de hidrofilicidade/hidrofobicidade da superfície determina o grau de umidificação e de flutuação e regula a adesão da superfície da célula, desnaturação da proteína e absorção de moléculas endógenas, que influenciam a toxicidade para células e a resposta inflamatória (Brown *et al.*, 1992; Tomatis *et al.*, 2002b). A bioatividade de uma fibra inalada também é influenciada pela adsorção de proteínas e lipídios do revestimento líquido do trato respiratório (Wallace & Keane, ????NIOSH). O grau de umidificação e flutuação pode influenciar os resultados de estudos *in vitro*.

Relevância para a carcinogenicidade

A geração de radicais livres favorece mutações e danos ao DNA.

As propriedades de superfície passam a ser um fator determinante na resposta inflamatória.

5. Depuração e biopersistência

Conforme discutido acima, a dosagem de uma fibra inalada retida no trato respiratório, em qualquer momento, é equivalente à dosagem depositada menos a quantidade depurada. Vários mecanismos fisiológicos de depuração contribuem para a eliminação da fibra do pulmão, incluindo (ILSI, 2005):

- Remoção do nariz e da região traqueobronquial pelo transporte mucociliar;
- Fagocitose por macrófagos alveolares na região alveolar;
- Translocação intersticial das fibras depositadas, incluindo a translocação para a pleura;
- Depuração via canais linfáticos quando as fibras atingirem o interstício.

A biopersistência de uma fibra é a medida da sua habilidade de permanecer nos pulmões, apesar dos mecanismos de depuração, mediados por propriedades específicas das fibras, tais como lixiviação, dissolução e ruptura. Vários sistemas de teste, incluindo inalação e ensaios de instilação endotraqueal realizados de acordo com protocolos bem definidos, e medições diretas da dissolução das fibras por meio do registro da perda de massa / unidade de área de superfície / unidade de tempo em fluidos pulmonares simulados, foram usados para medir a tendência da fibra em termos de biopersistência. Em uma análise de alguns testes de inalação realizados em fibras vítreas sintéticas a base de sílica, Moolgavkar *et al.* () mostraram que o potencial carcinogênico de uma fibra encontra-se diretamente relacionado à sua meia-vida ponderada (MVP), definida como a combinação linear de meias vidas de depuração de curto e longo prazo. Especificamente, mostrouse que o risco unitário para câncer de pulmão é aproximadamente uma função linear da MVP, quando esta é curta o suficiente para que a carga de fibra no pulmão alcance um ponto de equilíbrio em um lapso de tempo mais curto que a vida da espécie sendo testada.

Relevância para a carcinogenicidade

A biopersistência da fibra aumenta a carga no tecido e, portanto, pode aumentar qualquer grau de toxicidade que a fibra possa ter. Para fibras vítreas sintéticas, há evidência em animais de que o potencial de carcinogenicidade aumenta com a biopersistência. Isto não foi demonstrado para outras fibras.

Classe de fibras / tipo de fibra	Dados físicos e químicos*	Biopersistência	Informação sobre carcinogenicidade
Fibras inorgânicas cri	stalinas		
Wolastonita	Fibra OMS	$T_{1/2} = 10-25 \text{ dias (IT)}$	Baixa (biopersistência
(natural)	Comprimento > 5 \(\mu m^{**} \)	$T_{\frac{1}{2}}$ < 7 dias (inalada)	curta)
	Ø < 1µm	,2	ŕ
	Impurezas metálicas		
	Impurezas minerais		
	carcinogênicas		
	Dados ambíguos sobre FRG		
Xonotlita	Fibra OMS	$T_{1/2} < 2 \text{ dias (IT)}$	Muito baixa (todos os
(fabricada)	Comprimento < 2 µm (bruta?)	/2	parâmetros)
	Ø < 1 μm		,
	Impurezas - Ferro		
	Parcialmente solúvel em sol.		
	salina de Gamble		
	Ausência de FRG		
Atapulgita	Comprimento < ou > 5 μm	Sem dados	Média (respirável,
(natural)	dependendo do local do		insolúvel, impurezas)
	Depósito \emptyset < 0,5 µm		, 1
	Área específica de superfície >		
	100 m ² /g		
	Impurezas metálicas		
	Impurezas minerais		
	Dados ambíguos sobre FRG		
Sulfato de magnésio	Comprimento > 5 μm	$T_{\frac{1}{2}}$ < 1h (inalada)	Muito baixa a baixa
(fabricado)	\varnothing < 0,5 µm	72	(pouca biopersistência
	Metal carcinogênico		+ impurezas)
	Impurezas (em níveis de ppm)		
	Parcialmente solúvel em		
	solução salina de Gamble		
	Dados sobre FRG inadequados		
Titanato de potássio,	Comprimento até 100 µm	T _{1/2} ~ 100 dias (inalada)	Alta (muito
octatitanato e	Ø < 1 μm	Nenhuma alteração em ∅	biopersistente + baixa
hexatitanato (fabricado)	Impurezas metálicas (Co, Fe)	após 12 meses; depuração	sol. + impurezas)
	Baixíssima solubilidade	principalmente por	
	Ausência de FRG	macrófagos	
Materiais de fibra de	carbono	-	
Fibras de carbono	Comprimento < 200 µm	Sem dados	Muito baixa (não é
	(mediana ~ 40 µm)		altamente respirável,
	$3 < \emptyset < 8 \mu\text{m}$		não apresenta
	Não apresenta contaminantes		reatividade de
	metálicos		superfície)
	Insolúvel		
	Hidrófobo		
Whiskers de grafite	Comprimento > 5 μm	Altamente persistente	Baixa a média
	\varnothing < 1 μ m	(depuração > 1 ano)	(longa
	Não apresenta contaminantes	(asparaguo / 1 uno)	biopersistência, mas
	metálicos		sem reatividade de
	Insolúvel		superfície)
	Hidrófobo		,
L	1110101000	<u> </u>	

Fibras vítreas			
Lãs	Comprimento médio, < 5- 22 μm Média Ø, 0,3-10 μm Presença de ferro, no mínimo como vestígio (até 9 % p) Desde altamente hidrofílico (lã de vidro, de escória e de rocha) até hidrofílico (fibras de cerâmica)	WT _{1/2} grande variação, de acordo com o tipo específico de fibra: Lã de vidro, 7-49 dias Lã de escória, 9 dias Lã mineral de rocha, 67-91 dias FCR, 55 dias E-glass, 79 dias X607, 10 dias	Baixa a alta dependendo da biopersistência: Alta para rocha, FCR, E-glass Média para vidro Baixa para escória e X607
Filamentos	Comprimento depende de sua utilização; fibras < 250 μm provavelmente presentes Média Ø > 3,3 μm Os filamentos mais usados medem Ø > 9 μm	Sem dados	Baixa (não é altamente respirável)
Polímeros			
Fibras de para-aramida e meta-aramida	Ø, 12-15 μm; processo abrasivo libera fibrilas com Ø < 1 μm (apenas para a para-aramida) Comprimento, 2-4 mm, 6-12 mm, 38-100 mm Cristalina	T ½, 30 dias T ½, 60-170 dias após exposição subcrônica (p-aramida)	Média (não é altamente respirável, tem certa biopersistência, e cristalinidade)
Celulose	Comprimento até > 20 μ m, mediana 5-10 μ m \varnothing <0,1 - > 1,5 μ m mediana, 0,4-0,7 μ m Contaminante, lignina	Ver Hartwig (Muhle <i>et al.</i> , 1997) T _{1/2} , 72 dias para produtos comerciais T _{1/2} , 1000 dias para forma microcristalina	Média (biopersistência longa, e contaminantes orgânicos, não tóxicos)
Polietileno	Sem dados	Sem dados	Sem classificação
Polipropileno	Ø > 150 μm (filamento) Ø 1-5 μm (microfibras) Ø 5-4 μm (polpa sintética) Comprimento < 2,5 mm	Sem dados	Sem classificação
Cloreto polivinílico	Sem dados	Sem dados	Sem classificação
Álcool polivinílico	Comprimento > 5 μm Ø, 9-17 μm; não forma fibrilas	Sem dados	Baixa (fibras não respiráveis)

^{*} FRG significa geração de radicais livres derivados de fibra.

** O comprimento da fibra pode ser diferente das dimensões informadas, dependendo do tipo de depósito e das condições de uso.

Tipo de fibra substituta: Celulose

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>		
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad	
Humanos (epi) [suficiência para definir carcinogenicidade]	3 estudos em fábricas de celulose e papel com ligeiro excesso para câncer de pulmão, mas sem controle para exposições, apenas para tabagismo Excesso de câncer de pleura observado em uma coorte, mas possível exposição ao amianto.	Ī	I	
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	Injeção intraperitoneal de um tipo de fibras de celulose (TMWP) resultou em tumores diferentes que apareceram mais rápido do que tumores induzidos por outros tipos de fibras	<u>B</u>	Ī	
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]	Produção de ERO; alguma evidência, porém estudo inadequado em razão da liberação de alguns mediadores inflamatórios, não fornece as características das fibras.	<u>I</u>	I	
Física-Quím &	Se não for fibra respirável I, de outra forma B	I ou B	I ou	
Biopersistência	alta			
[semelhanças com fibras carcinogênicas]				
Interpretação geral	Igual à física química			

Tipo de fibra substituta: Aramida

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>		
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad	
Humanos (epi) [suficiente para definir carcinogenicidade]	SEM DADOS	-	-	
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	(exclusivamente para-aramida) 1 estudo de inalação crônica, efeito pulmonar observado (cistos queratinizantes) estudo com algumas limitações (baixas concentrações de exposição, período de observação curto). Fibrose observada após exposição por 2 anos. O grupo de trabalho fez a observação de que existe um estudo inédito sobre carcinogenicidade que não foi incluído.	<u>M</u>	Ī	
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]	para-aramida Estudo negativo sobre aberração cromossômica em linfócitos humanos, não informativo Aramida: atividade proliferativa em células de <i>hamster</i> . Os dados disponíveis não são suficientes para chegar a uma conclusão.	<u>I</u>	<u>I</u>	
Física-Quím & (semelhanças com fibras carcinogênicas)	Libera fibrilas com d < 1 μm (para-aramida, apenas) <u>Comprimento de fibras reparável aprox 10 μm</u> cristalinidade	М	B-M	
Biopersistência	30 dias após exposição por inalação por 5 dias 60-170 dias após exposição subcrônica a 50-800 fibras (Fibras OMS)			
Interpretação geral	Evidência guiada por dimensões semelhantes a fibras carcinogênicas conhecidas e apoiada por efeitos pulmonares em animais usados nos experimentos e biopersistência.	M	I	

Tipo de fibra substituta: Cloreto polivinílico

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>	
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi) [suficiência para definir carcinogenicidade]	Sem dados	<u>I</u>	<u>I</u>
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	Sem dados	I	I
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]	Sem dados	<u>I</u>	<u>I</u>
Física-Quím & Biopersistência [semelhanças com fibras carcinogênicas]	Sem dados	I	I
Interpretação geral		I	I

Tipo de fibra substituta: Álcool polivinílico

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>	
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi) [suficiência para definir carcinogenicidade]	Sem dados	<u>i</u>	<u>i</u>
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	Sem dados	<u>i</u>	<u>i</u>
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]	Sem dados	<u>i</u>	<u>i</u>
Física-Quím & Biopersistência	Diâmetro 10-16 μm, mas com baixa densidade, portanto o limite respirável é de 7 μm Fibras não formam fibrilas	i	i
[semelhanças com fibras carcinogênicas]	Sem dados		
Interpretação geral		i	i

Tipo de fibra substituta: Polipropileno

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>	
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi) [suficiência para definir carcinogenicidade]	Excesso de câncer de cólon em 2 ou 3 estudos, mas a documentação de exposição a fibras não é clara.	<u>I</u>	Ī
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	Não há estudos de longo prazo, não há fibrose em estudos subcrônicos.	I	Ī
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]	Poeira de polipropileno não fibrosa em 1 estudo.	<u>I</u>	<u>I</u>
Física-Quím & Biopersistência	Diam 1-5 μm, comprimento aprox. 30 μm em um estudo subcrônico de tox	I	I
[semelhanças com fibras carcinogênicas]	Biopersistência alta (300 dias) via endotraqueal (diâmetro médio 0,5 μm, comprimento médio 12 μm)	A	
Interpretação geral		<u>B</u>	I

Tipo de fibra substituta: Polietileno

Evidência	Descrição	Interpretação	
	3	Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi) [suficiência para definir carcinogenicidade]	Sem dados	<u>I</u>	<u>I</u>
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	Sem dados	<u>I</u>	<u>I</u>
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]	Sem dados Poeira de polietileno é citotóxica em 1 estudo	<u>I</u>	<u>I</u>
Física-Quím & Biopersistência [semelhanças com fibras	Produzido acima de 10-15 μm	I	I
carcinogênicas] Interpretação geral	Sem dados	I	I

Tipo de fibra substituta: Lãs minerais

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>	
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi) [suficiência para definir carcinogenicidade]	2 estudos (EUA, Europa); análises de coorte demonstraram excesso de câncer de pulmão, mas estudos caso controle aninhados, com controle para tabagismo, não demonstraram nenhum excesso. Entretanto, os períodos não são exatamente concomitantes.	<u>B</u>	Ī
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	Inalação crônica: resultados positivos e resultados negativos - câncer de pulmão (ratos com exposição baixa) Injeção intraperitoneal: resultados positivos e negativos (diferentes graus de potência carcinogênica)	<u>A a B</u>	<u>A a B</u>
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]			
Física-Quím &			
Biopersistência			
[semelhanças com fibras carcinogênicas]			
Interpretação geral	* = nenhum perigo foi demonstrado em estudos por qual tipo de fibra?		

Tipo de fibra substituta: Fibras de vidro

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>	
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi) [suficiência para definir carcinogenicidade]	2 grande estudos nos EUA e Europa em fábricas de fibra de vidro não conseguiram encontrar nenhuma associação com câncer de pulmão.	<u>I*</u>	<u>B</u>
Animal (in vivo) [indicação positiva de carcinogenicidade]	Inalação crônica: resultados positivos e resultados negativos - câncer de pulmão (ratos com exposição baixa) Injeção intraperitoneal: resultados positivos e negativos (diferentes graus de potência carcinogênica)	<u>A a B</u>	<u>A a B</u>
Mecanismos [afeta indicações cruciais de carcinogenicidade]			
Física-Quím &			
Biopersistência			
[semelhanças com fibras carcinogênicas]			
Interpretação geral	* = nenhum perigo foi demonstrado em estudos por qual tipo de fibra?		

Tipo de fibra substituta: Fibras de cerâmica

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>	
		Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi)	1 pequeno estudo de coorte com seguimento relativamente curto e que não foi		
[suficiência para definir carcinogenicidade]	positivo para câncer de pulmão e mesotelioma.	<u>B</u>	<u>I</u>
-	Um outro estudo documentou excesso de placas pleurais.		
Animal (in vivo)	Inalação crônica: resultados positivos e resultados negativos - câncer de pulmão		
[indicação positiva de	(ratos com exposição baixa)	<u>A a B</u>	<u>A a B</u>
carcinogenicidade]	Injeção intraperitoneal: resultados positivos e negativos (diferentes graus de potência carcinogênica)		
Mecanismos			
[afeta indicações			
cruciais de			
carcinogenicidade]			
Física-Quím &			
Biopersistência			
[semelhanças com fibras carcinogênicas]			
Interpretação geral	* = nenhum perigo foi demonstrado em estudos por qual tipo de fibra?		

Tipo de fibra substituta: Titanato de potássio

Evidência	Descrição	<u>Interpretação</u>	
	•	Evidência de perigo A-M-B-Inad	Potência A-M-B-Inad
Humanos (epi) (suficiência para determinar a carcinogenicidade)	Sem dados	=	=
Animal (in vivo) (indicação positiva de carcinogenicidade)	Nenhuma indicação de carcinogenicidade em estudo de inalação crônica de relevância questionável e incidência alta e dose-dependente de mesotelioma após injeção intraperitoneal em 2 espécies (até 80% em uma dose alta) alta evidência de perigo com dose resposta.	<u>A</u>	A
Mecanismos (afeta indicações cruciais de carcinogenicidade)	Banco de dados pequenos; quebra da fita de DNA, x aberrações → evidência de forte genotoxicidade (comparável ao crisotila)	A	<u>A</u>
Física-Quím & Biopersistência	Baixa solubilidade, impureza ferro e cobalto, diâmetro pequeno	M	M
[semelhanças com fibras carcinogênicas]	Meia vida longa		
Interpretação geral	Evidência guiada por dados experimentais, apoiada por dados de genotoxicidade, dimensões e biopersistência.	A	A