

Cyklofosfamid

Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego¹

Cyclophosphamide

Documentation of proposed values occupational exposure limits (OELs)

*dr JAN P. GROMIEC
e-mail: jpgrom@imp.lodz.pl
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8*

NDS: 0,01 mg/m³
NDSCh: -
NDSP: -
DSB: 1 µg cyklofosfamidu w 24-godzinnej próbce moczu

Carc. 1A – substancja rakotwórcza kategorii 1.A (wykazuje potencjalne działanie rakotwórcze dla ludzi)
Skóra – wchłanianie substancji przez skórę może być podobnie istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową
Ft – substancja działająca szkodliwie na płód

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 1.10.2014 r.

Data przyjęcia dokumentacji przez Międzyresortową Komisję ds. NDS i NDN: 14.01.2015 r.

Słowa kluczowe: cyklofosfamid, narażenie zawodowe, lek cytostatyczny, substancja rakotwórcza, NDS.

Keywords: cyclophosphamide, occupational exposure, antineoplastic drug, cancerogenic substance, OEL.

¹ Wartość NDS cyklofosfamidu została przyjęta dnia 14.01.2015 r. na 77. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i przedłożona w 2015 r. ministrowi pracy i polityki społecznej (wniosek nr 93) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

Streszczenie

Cyklofosfamid ma postać białego, drobnego, bezwonnego proszku (monohydrat), który pozbawiony wody krystalizacyjnej ma postać oleistej, półpłynnej substancji ciemniejącej pod wpływem światła.

Cyklofosfamid działa cytostatycznie i immunosupresyjnie. Stosowany jest w leczeniu: ziarnicy złośliwej, chłoniaków złośliwych, szpiczaka mnogiego, przewlekłej białaczki limfatycznej, raka jajnika, nieoperacyjnego raka sutka oraz nabłonniaka oskrzeli. Jako środek immunosupresyjny cyklofosfamid jest stosowany w leczeniu: zespołu nerczycowego, liszaja rumieniowatego, reumatoidalnego zapalenia stawów, niedokrwistości immunohemolitycznych oraz podczas transplantacji nerek i szpiku. Lek podaje się doustnie w postaci tabletek lub drażetek oraz pozajelitowo po rozpuszczeniu substancji *ex tempore* w wodzie do wstrzykiwań. Stosuje się go również do perfuzji narządów, w których rozwija się nowotwór. Stosowany jest zarówno pojedynczo, jak i (najczęściej) w połączeniu z innymi lekami przeciwnowotworowymi.

Podczas produkcji cyklofosfamidu głównymi drogami narażenia zawodowego są układ oddechowy i skóra. Skóra jest główną drogą narażenia personelu medycznego na cyklofosfamid, dlatego większość danych o poziomach narażenia w szpitalach dotyczy stężeń związku na powierzchni stołów, na których są przygotowywane preparaty dla pacjentów, a także obserwowanych stężeń cyklofosfamidu na skórze i w moczu personelu.

Brak jest danych na temat zawodowego narażenia podczas produkcji cyklofosfamidu w Polsce. Nie ma informacji o tym, że cyklofosfamid jest w Polsce produkowany. Zgodnie z danymi, nadesłanymi przez zakłady pracy do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszaniny, Czynniki lub Procesy technologiczne o Działaniu Rakotwórczym w Łodzi, na cyklofosfamid było narażonych zawodowo w Polsce 1476 osób w 2001 r. Według raportu Krajowego Konsultanta w dziedzinie pielęgniarstwa onkologicznego w 2010 r. (dane niepełne, obejmujące jedynie 12 województw) liczba pielęgniarek w placówkach onkologicznych wynosiła łącznie 5077.

Wartość LD_{50} po podaniu *per os* cyklofosfamidu szczurom wynosi 180 mg/kg mc., a w przypadku myszy 137 mg/kg mc. Leukopenia była głównym skutkiem działania cyklofosfamidu na układ krwiotwórczy u: myszy, szczurów i psów. Stwierdzono również zahamowanie czynności

szpiku kostnego i spadek liczby płytek krwi. Związek u: myszy, szczurów i psów, powodował: martwicę pęcherza oraz nabłonka kanałków i miedniczek nerkowych, a umiarkowane uszkodzenia obserwowano również w wątrobie. Dane dotyczące działania toksycznego cyklofosfamidu na ludzi pochodzą od pacjentów leczonych tym związkiem. Cyklofosfamid u ludzi w warunkach narażenia ostrego powodował: uszkodzenie szpiku kostnego, krwotoczne zapalenie pęcherza, a także kardiomiopatię. Kardiotoxycyzność wywoływana przez cyklofosfamid objawia się w szerokim zakresie – od małych zmian w ciśnieniu krwi, przez zmiany w EKG i niemiarkowość do wtórnej kardiomiopatii ze zmniejszoną frakcją wyrzutową lewej komory (LVEF) i niewydolnością serca, zakończoną śmiercią, w bardzo rzadkich przypadkach.

Najczęstszym skutkiem ubocznym terapii cyklofosfamidem chorób autoimmunologicznych (np. układowego toczenia rumieniowatego, artretyzmu reumatoidalnego, ziarniniaka Wegenera, chłoniaków nieziarnicznych) jest działanie toksyczne na pęcherz moczowy. Zapadalność pacjentów na krwotoczne zapalenie pęcherza jest rzędu 12 ÷ 41% i skutek ten występował u pacjentów, którzy otrzymywali ponad 100 g leku doustnie w ciągu ponad 30 miesięcy. Za toksyczne działanie cyklofosfamidu na pęcherz jest odpowiedzialna akroleina, będąca jego metabolitem, natomiast przy dożylnym podawaniu leku zapalenie pęcherza jest niezwykle rzadkie. Innymi objawami stwierdzanymi u pacjentów otrzymujących cyklofosfamid były: retencja sodu i wody, zwłóknienie płuc, zaburzenia widzenia, pigmentacja paznokci, jednakże jego rola w tych przypadkach nie została wyjaśniona.

Genotoksycyzność cyklofosfamidu potwierdzono w wielu badaniach, prowadzonych w warunkach *in vivo* oraz *in vitro* na hodowlanych modelach zwierzęcych. Przeprowadzono znaczną liczbę badań właściwości cytogenetycznych cyklofosfamidu na: traszkach, gryzoniach, psach i naczelnych, uzyskując niezmiennie dodatnie wyniki. W wielu doniesieniach opisano tworzenie adduktów DNA u ludzi pod wpływem działania cyklofosfamidu. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) uznała, że są wystarczające dowody na działanie rakotwórcze cyklofosfamidu na ludzi. Cyklofosfamid wywołuje u ludzi raka pęcherza i ostrą białaczkę szpikową. Uznano również, że są wystarczające dowody działania rakotwórczego tego związku na zwierzęta doświadczalne i sklasyfikowano cyklofosfamid jako

związek rakotwórczy dla ludzi (Grupa 1.).

W Unii Europejskiej cyklofosfamid został zaklasyfikowany jako substancja rakotwórcza kategorii 1.A i mutagenna kategorii 2.B.

Cyklofosfamid wpływa na rozrodczość u ludzi zarówno w okresie leczenia, jak i przez krótki czas po jego zakończeniu. Związek ten powoduje u ludzi zaburzenia płodności i zaburzenia miesiączkowania. Cyklofosfamid jest teratogeny dla wielu gatunków zwierząt, m.in. dla: szczurów, myszy, królików i naczelnych. Jest odpowiedzialny za: zniekształcenia i deformacje w układzie kostnym, tkankach miękkich oraz zwiększoną liczbę resorpcji, a rodzaj i częstość deformacji są ściśle zależne od czasu i wielkości dawki. Cyklofosfamid działa szkodliwie na zarodki i prowadzi do poronień. Narażenie na cyklofosfamid w pierwszym trymestrze ciąży może powodować takie liczne wady rozwojowe płodu, jak: uszkodzenia kośćca i podniebienia oraz zniekształcenia kończyn.

Cyklofosfamid wchłania się: drogą inhalacyjną, z przewodu pokarmowego, z jamy otrzewnej i przez skórę. W przypadku narażenia zawodowego personelu medycznego skóra uważana jest za główną drogę wchłaniania.

Zarówno w Polsce, jak i w innych państwach nie ustalono dotychczas wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) cyklofosfamidu w powietrzu na stanowiskach pracy ani wartości

dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla narażenia zawodowego.

Za podstawę do wyprowadzenia wartości NDS przyjęto działanie rakotwórcze cyklofosfamidu na zwierzęta. Wykorzystano współczynnik nachylenia krzywej dawka-odpowiedź na poziomie 0,57 mg/kg mc./dzień dla nowotworów pęcherza obliczony na podstawie wyników całozyciowego narażenia szczurów na cyklofosfamid drogą pokarmową. Średnia dawka całozyciowa dla ryzyka 10^{-4} wynosi $1,754 \cdot 10^{-4}$ mg/kg mc./dzień, co w warunkach narażenia zawodowego odpowiada stężeniu w powietrzu 0,01 mg/m³ i taką wartość postanowiono zaproponować jako wartość NDS. Wartość NDS cyklofosfamidu w obliczonej wysokości powinna chronić pracowników również przed białaczką i działaniem na rozrodczość. Zaproponowano również przyjęcie wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) w wysokości 1 µg cyklofosfamidu w całodobowej zbiórce moczu. Brak jest podstaw merytorycznych do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh). Zaproponowano dla cyklofosfamidu zastosowanie następującego oznakowania: Carc. 1A – substancja rakotwórcza kategorii 1.A, „skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być podobnie istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową oraz oznakowanie literami „Ft” – substancja działająca szkodliwie na płód.

Summary

Cyclophosphamide (monohydrate) is a fine white crystalline odorless powder. The substance liquefies and becomes an oily semisolid mass when water is removed. It darkens on exposure to light.

Cyclophosphamide is an antineoplastic and immunosuppressant agent. It is used to treat malignant lymphoma, multiple myeloma, leukemia, breast and ovarian cancer, neuroblastoma and malignant neoplasms of the lung. Cyclophosphamide is also used as an immunosuppressive agent to treat autoimmune disorders such as rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and nephrotic syndrome (a kidney disorder) in children. It is increasingly being used as an immunosuppressive agent following organ (kidney, bone marrow) transplantation. The drug may be administered orally in the form of tablets or intravenously following dissolution ex tempore in aqua for injections. It may

also be used for perfusion of cancer-affected organs. In chemotherapy, it may be used alone, but more frequently is used concurrently or sequentially with other anticancer drugs.

During manufacture of cyclophosphamide, skin and the respiratory system are the main routes of exposure. Since skin is the most important route of exposure of medical personnel, most of the reported exposure data include surface concentration of the compound in locations where the drug is prepared for treatment and cyclophosphamide concentration on the skin and in urine of the personnel.

No data on occupational exposure during production of cyclophosphamide in Poland are available. It is not known whether cyclophosphamide is manufactured in Poland. According to the information in the Central Register of Exposure to Carcinogenic Compounds, Mixtures and

Technological Processes, 1476 persons were occupationally exposed to cyclophosphamide in 2001 in Poland. In 2010, there were 5077 oncological nurses (incomplete data, 12 out of 16 voivodships).

Oral LD₅₀ for cyclophosphamide was 180 mg/kg bw for rats and 137 mg/kg bw for mice. In mice, rats and dogs the predominant haematologic effect was leucopaenia. Depression in bone marrow and thrombocytes was also reported. Cyclophosphamide causes a marked necrosis of the bladder and of the tubular and pelvic epithelium in mice, rats and dogs; moderate damage in liver was also observed. Toxicity data for humans are derived mostly from findings in patients treated with cyclophosphamide. The predominant haematological effect of cyclophosphamide is leucopaenia. Acute toxicity of cyclophosphamide may lead to bone marrow damage, hemorrhagic cystitis and cardiomyopathy. Cyclophosphamide induced cardiotoxicity may be pronounced as changes in blood pressure, abnormal EKG, arrhythmia leading to secondary cardiomyopathy with lowered left ventricular ejection fraction (LVEF) and heart failure leading in isolated cases even to death.

The most frequent side effect of treatment of autoimmune inflammatory diseases (e.g., systemic lupus erythematosus, systemic vasculitis, scleroderma, rheumatoid arthritis, Wegener's granulomatosis) is toxicity to the urinary bladder. Incidence of hemorrhagic cystitis was in the range 12 - 41% in patients receiving orally more than 100 g of the drug over 30 months and more. The bladder toxicity of cyclophosphamide is caused by the formation of acrolein, which is its metabolite; hemorrhagic cystitis is, however, extremely rare following intravenous administration. Another symptoms in cyclophosphamide-treated patients are sodium and water retention, pulmonary fibrosis, visual blurring, nail pigmentation but the causative role of cyclophosphamide in these effects is, however, not well established.

Genotoxicity of cyclophosphamide has been confirmed in many tests *in vivo*, *in vitro* and on cultured animal models. Many studies have investigated the cytogenicity of cyclophosphamide in newts, rodents, dogs and non-human primates giving consistently positive results. There are numerous reports of DNA-adduct formation by cyclophosphamide in humans.

The International Agency for Research on Cancer

(IARC) has announced that there is sufficient evidence in humans for the carcinogenicity of cyclophosphamide. Cyclophosphamide causes cancer of the bladder and acute myeloid leukemia. There is also sufficient evidence in laboratory animals for the carcinogenicity of cyclophosphamide. Cyclophosphamide has been classified as carcinogenic to humans (Group 1).

In the European Union, cyclophosphamide has been classified as carcinogenic category 1.A and mutagenic category 2.B.

Cyclophosphamide has an influence on reproducibility in humans both during treatment and immediately afterwards. It causes fertility impairment and menstrual disorders. Cyclophosphamide is teratogenic to many animal species including rats, mice, rabbits and primates. It is responsible for a variety of musculoskeletal and other malformations and an increased number of resorptions. The type and frequency of malformations are strictly dose- and time-dependent. It is harmful to embryos and may lead to abortions. Exposure to cyclophosphamide in the first trimester of pregnancy may cause numerous congenital anomalies in fetuses, musculoskeletal malformations and deformations of limbs. Cyclophosphamide may be absorbed by inhalation, ingestion, from skin contact or from peritoneum. In the case of occupational exposure of health professionals, skin is considered the main route of exposure.

Both in Poland and in other countries, neither occupational exposure level (OEL) in workplace air nor biological exposure index (BEI) has been established for occupational exposure to cyclophosphamide.

The proposed OEL value for cyclophosphamide has been derived from its carcinogenicity to laboratory animals, namely from a cancer slope factor (CSF) of 0.57 (mg/kg/day)⁻¹ for bladder cancer, calculated from lifetime oral exposure of rats. The mean dose for 1 · 10⁻⁴ excess lifetime cancer risk would be 1.754 · 10⁻⁴ (mg/kg/day)⁻¹, which in the condition of occupational inhalation exposure is equivalent to air concentration 0.01 mg/m³ and this value is proposed as Time Weighted Average (TWA) OEL. The proposed OEL should protect employees against leukemia and reproductive toxicity, too. The proposed biological exposure index (BEI) is 1 µg of cyclophosphamide in a 24-hr urine sample. There are no grounds for establishing short-term exposure limit (STEL).

Labelling the substance with "Carc. 1A" (carcinogen category 1A), "Skóra" (substance can penetrate skin) and "Ft" (substance harmful to fetus) has been proposed.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

20501; NCI-C0 4900; NSC 26271.

Ogólna charakterystyka cyklofosfamidu:

- nazwa
 - chemiczna cyklofosfamid
 - wzór
 - sumaryczny $C_7-H_{15}-Cl_2-N_2-O_2-P$
 - wzór strukturalny
-
- nazwa CAS 2H-1,3,2-oxazaphosphorin-2-amine; *N,N*-bis(2-chloroethyl)tetrahydro-, 2-oxide
 - numer CAS 50-18-0
 - numer RTECS RP5950000
 - numer EC 200-015-4
 - synonimy i nazwy handlowe 2H-1,3,2-Oxazaphosphorine; 2-(bis(2-chloroethyl)amino)tetrahydro-, 2-oxide; 2H-1,3,2-Oxazaphosphorin-2-amine; *N,N*-bis(2-chloroethyl)tetrahydro-, 2-oxide (9CI); Bis(2-chloroethyl)phosphoramidate-cyclic propanolamide ester; Cyclophosphamide; Cyclophosphoramidate; Cyclostin; Cytosan; Endosan; Genoxal; Genuxal; Mitoxan; Sendoxan; CPN; CYP; CP; ASTA B518; CB 4564; Clafen; Claphene; Cytophosphan; Sendoxan; Procytox; CP; SK

Właściwości fizykochemiczne substancji

Właściwości fizykochemiczne cyklofosfamidu (HSDB 2014; IARC 2011; NTP 2011):

- postać i wygląd biały drobny proszek bez zapachu (monohydrat), pozbawiony wody krystalizacyjnej ma postać oleistej, półpłynnej substancji, ciemnieje pod wpływem światła
- zapach bezwonny lub prawie bezwonny o łagodnie gorzkawym smaku
- masa cząsteczkowa 261,1
- temperatura topnienia $49,5 \div 53 \text{ }^\circ\text{C}$
- temperatura wrzenia $336 \text{ }^\circ\text{C}$
- temperatura zapłonu brak danych
- gęstość właściwa brak danych
- pH w roztworze wodnym $4,0 \div 6,0$
- prężność par $5,93 \cdot 10^{-5} \text{ hPa}$ w temp. $25 \text{ }^\circ\text{C}$
- rozpuszczalność: rozpuszczalny w: etanolu (100 mg/ml), chloroformie, dioksanie oraz glikolach, słabo rozpuszczalny w benzenie i tetrachlorku

węgla, bardzo słabo rozpuszczalny w eterze etylowym oraz acetonie, nierozpuszczalny w disiarczku węgla; rozpuszczalność w wodzie 40g/l w temp. 20 °C

- współczynnik podziału oktanol/woda log Kow0,63
- stała dysocjacji pKa 9,91
- stabilność ciemnieje pod wpływem światła, wrażliwy na wilgotność oraz utlenianie; wodne roztwory mogą być przechowywane w temperaturze pokojowej do kilku godzin, lecz w temperaturze powyżej 30 °C dochodzi do hydrolizy z uwolnieniem chloru; roztwory w DMSO i 95-procentowym etanolu lub acetonie są trwałe przez 24 h w zwykłych warunkach laboratoryjnych.

Zgodnie z tabelą 3.2. załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. Unii Europejskiej z dnia 31.12.2008 r. (L 353), 1–1355 ze zm.) cyklofosfamid jest zaklasyfikowany jako substancja toksyczna i oznaczona: T; R25 i R45. Symbole te informują o tym, że cyklofosfamid:

- T – jest substancją toksyczną
- R25 – działa toksycznie po połknięciu
- R45 – może powodować raka.

Klasyfikację oraz oznakowanie substancji sporządzoną zgodnie z wymaganiami, zawartymi w tabeli 3.1. załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r., a zamieszczoną w bazie danych GESTIS instytutu IFA (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, IFA 2014) przedstawiono w tabeli 1. oraz na rysunku 1.

Tabela 1.

Klasyfikacja oraz oznakowanie cyklofosfamidu na podstawie rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1272/2008 (IFA 2014)

| Numer indeksowy | Międzynarodowa terminologia chemiczna | Numer WE | Numer CAS | Klasyfikacja | | Oznakowanie | | Specyficzne stężenia graniczne i współczynniki „M” |
|-----------------|---------------------------------------|-----------|-----------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| | | | | klasa zagrożenia i kody kategorii | kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia | piktogram kody hasel ostrzegawczych | kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia | |
| | 2-H-1,3,2-oxazaphosphorinane | 200-015-4 | 50-18-0 | Acute Tox. 3 Skin Irrit. 2 Germ. Cell Mut. 1B Carc. 1A Repr. | H301 H315 H340 H350 H362 | GHS06 GHS08 Dgr | H301 H315 H340 H350 H362 | |

Objaśnienia:

Acute Tox. 3 – toksyczność ostra (droga pokarmowa), kategoria zagrożenia 3.

H301 – działa szkodliwie po połknięciu.

Skin Irrit. 2 – działanie drażniące na skórę, kategoria zagrożenia 2.

H315 – działa drażniąco na skórę.

Germ cell mut. 2B – działanie mutagenne na komórki rozrodcze, kategoria zagrożenia 2.B.

H340 – może powodować wady genetyczne.

Carc. 1A – rakotwórczość, kategoria zagrożenia 1.A.

H350 – może powodować raka.
Repr. – działanie szkodliwe na rozrodczość.
H362 – może działać szkodliwie na dzieci karmione piersią.

Hasło ostrzegawcze:
Dgr. – niebezpieczeństwo



Toksyczność ostra (droga pokarmowa, po naniesieniu na skórę, po narażeniu inhalacyjnym), kategoria zagrożenia 3. GHS06



Działanie mutagenne na komórki rozrodcze, kategoria zagrożenia 2.B, rakotwórczość, kategoria zagrożenia 1.A, działanie szkodliwe na rozrodczość (może działać szkodliwie na dzieci karmione piersią) GHS08

Rys. 1. Piktogramy określone w rozporządzeniu WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem, na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Cyklofosfamid jest otrzymywany w wyniku reakcji dichlorku *N,N*-bis (B-chloroetylo)fosfamidu z propanoloaminą w obecności trimetyloaminy i dioksanu. Po raz pierwszy cyklofosfamid zsyntetyzowali *Arnold*, *Bourseaux* i *Brock* w 1958 r. (*Arnold*, *Bourseaux* 1958). Głównym producentem cyklofosfamidu są Niemcy, część produkcji jest eksportowana do USA, gdzie jest poddawana formulacji. Cyklofosfamid jest wytwarzany również w Finlandii i w Wielkiej Brytani, w ilości kilkuset kilogramów rocznie (IARC 1975; 2011). Brak jest danych odnośnie do produkcji cyklofosfamidu i jego zużycia w Polsce.

Cyklofosfamid ma działanie cytostatyczne oraz immunosupresyjne i jest stosowany w leczeniu: ziarnicy złośliwej, chłoniaków złośliwych innych niż Hodgkina, szpiczaka mnogiego, przewlekłej białaczki limfatycznej, raka jądnika, nieoperacyjnego raka sutka oraz nabłonniaka oskrzeli. Jako środek immunosupresyjny

jest stosowany w leczeniu: zespołu nerczykowego, liszaja rumieniowatego, reumatoidalnego zapalenia stawów, niedokrwistości immunohemolitycznych oraz podczas transplantacji nerek i szpiku. Populacja ogólna nie jest narażona na ten związek, gdyż jest on stosowany wyłącznie w celach terapeutycznych. Szacuje się, że na całym świecie terapii cyklofosfamidem jest poddawanych rocznie około 500 000 pacjentów (*Travis* i wsp. 1995).

Lek podaje się doustnie w postaci tabletek lub drażetek oraz pozajelitowo po rozpuszczeniu substancji *ex tempore* w wodzie do wstrzykiwań. Stosuje się go również do perfuzji narządów, w których rozwija się nowotwór. Cyklofosfamid jest stosowany zarówno pojedynczo, jak i w połączeniu z innymi lekami przeciwnowotworowymi. U pacjentów bez niedoborów hematologicznych poddanych monoterapii początkowo cyklofosfamid podaje się dożylnie w dawkach $40 \div 50$ mg/kg mc., podzielonych na dawki w ciągu 2 ÷ 5 dni. Stosuje się również dawkowanie dożylnie cyklofosfamidu

w dawkach $10 \div 15$ mg/kg mc. co $7 \div 10$ dni lub w dawkach $3 \div 5$ mg/kg mc. dwa razy w tygodniu. Podczas podania doustnego przy zainicjowaniu oraz kontynuacji terapii dzienna dawka cyklofosfamidu wynosi $1 \div 5$ mg/kg, w zależności od tolerancji przez pacjenta. Dzieciom z zespołem nerczycowym, u których terapia kortykosterydami była nieskuteczna, podaje się cyklofosfamid w dawce $2 \div 3$ mg/kg mc. dziennie przez $60 \div 90$ dni. Bardzo duże dawki cyklofosfamidu, rzędu 60 mg/kg mc. w ciągu 2 dni, podaje się pacjentom poddawany przeszczepowi szpiku w ramach kondycjonowania. Jednym z najczęściej stosowanych trybów leczenia wczesnych nowotworów piersi jest doustne podanie cyklofosfamidu pierwszego dnia o stężeniu 100 mg/m² przez 14 dni cyklu w połączeniu z dożylnym podaniem metotreksatu o stężeniu 40 i 600 mg/m² fluorouracilu w 1. oraz 8. dniu każdego cyklu.

Cyklofosfamid jest dostępny w postaci tabletek zawierających 25 lub 50 mg substancji do podawania doustnego oraz we wialach zawierających: 200 lub 500 mg czy 1 lub 2 g cyklofosfamidu w postaci proszku do podawania pozajelitowego (IARC 1975; 2011; *Adamiak-Ziemba, Wnuk* 1994).

Narażenie zawodowe na cyklofosfamid przez kontakt ze skórą lub wdychanie pyłu może mieć miejsce podczas: wytwarzania, konfekcjonowania i pakowania leku. Narażenia zawodowo mogą być również: pracownicy służby zdrowia (farmaceuci, pielęgniarki oraz lekarze), którzy mają do czynienia z cyklofosfamidem (przygotowywanie, podawanie leku, utylizacja), jednakże narażenie to może być ograniczone dzięki stosowaniu odpowiedniego sprzętu i procedur (NTP 2011). W ramach badań National Occupational Exposure Survey, przeprowadzonych w latach 1981-1983, oszacowano, że liczba potencjalnie zawodowo narażonych na cyklofosfamid w USA wynosiła 30 026 osób, w tym 20 745 kobiet (NIOSH

1990). Szacuje się, że w Kanadzie liczba narażonych zawodowo na cytostatyki w 2006 r. wynosiła około 63 000 osób, w tym 79% kobiet (Pan American... 2014).

Przy produkcji cyklofosfamidu głównymi drogami narażenia zawodowego jest układ oddechowy i skóra. Skóra pozostaje główną drogą narażenia personelu medycznego na cyklofosfamid, dlatego większość danych o poziomach narażenia w szpitalach dotyczy stężeń na powierzchni stołów, na których są przygotowywane preparaty dla pacjentów, a także poziomów cyklofosfamidu na skórze i w moczu personelu.

Sorsa i wsp. badali narażenie zawodowe, zarówno zatrudnionych przy produkcji cyklofosfamidu, jak i personelu medycznego przygotowującego i aplikującego ten środek, na podstawie wyników analizy powietrza oraz monitoringu biologicznego (*Sorsa* i wsp 1988). Podczas produkcji surowego cyklofosfamidu największe stężenia podczas napełniania oraz opróżniania bębnow suszających wynosiły do 810 µg/m³ (pomiar stacjonarne), a narażenie indywidualne zatrudnionych przy tych czynnościach pracowników wynosiło $97 \div 190$ µg/m³. Średni poziom narażenia pracowników zatrudnionych przy tabletkowaniu leku wynosił $7,5$ µg/m³. W próbkach powietrza pobranych pod wyciągami, gdzie przygotowywano i rozcieńczano cyklofosfamid dla pacjentów, jak również przy wstrzykiwaniu leku pacjentom, były znacznie mniejsze od oznaczalności metody ($0,1$ µg/m³). Cyklofosfamidu nie wykryto również na powierzchniach stołów pod wyciągami, na których przygotowywano preparaty dla pacjentów.

W moczu dwóch pielęgniarek oddziału onkologicznego, przygotowujących lek do podania pacjentom, a nienarażonych drogą inhalacyjną, stwierdzono obecność cyklofosfamidu, w związku z tym postanowiono sprawdzić, czy drogą narażenia mogło być wchłanianie leku

przez skórę. Roztwór cyklofosfamidu o zawartości 1 mg nałożono na skórę 5 ochotników w okolicach dołka łokciowego. W zebranim w ciągu 24 h moczu zidentyfikowano zmienne ilości niezmetabolizowanego cyklofosfamidu (średnio około 1% dawki). W większości przypadków związek ten występował w próbkach moczu pobranych ponad 6 h po aplikacji. Cyklofosfamid wykryto w niektórych próbkach moczu pobranych od pielęgniarek, lecz stężenia związku w moczu nie zależały od ilości przygotowywanego leku (Hirst i wsp. 1984). Cyklofosfamid w moczu pielęgniarek występował wcześniej niż w moczu ochotników, co zdaniem autorów sugerowało szybsze wchłanianie, prawdopodobnie drogą inhalacyjną przez wdychanie aerozolu tworzącego się przy rozpuszczaniu leku.

Według Kromhouta i wsp. (2000) podczas każdej infuzji jest emitowane $0,5 \div 250 \mu\text{g}$ leku. Narażenie personelu technicznego, przygotowującego leki antynowotworowe w aptecznych oddziałach szpitali holenderskich, badali Sessink i wsp. (1992; 1994; 1997). W powietrzu podczas przygotowywania leków pod wyciągiem z przepływem laminarnym cyklofosfamidu nie wykryto, natomiast zanieczyszczenie stołu pod wyciągiem wynosiło $1 \div 160 \text{ ng/cm}^2$. Rękawice ochronne były zanieczyszczone w minimalnym stopniu, a w moczu pracowników nie wykryto cyklofosfamidu (Sessink i wsp. 1992). W następnym badaniu tych autorów (Sessink i wsp. 1994) stężenie cyklofosfamidu w powietrzu pod wyciągiem wahało się $< 0,04 \div 10,1 \mu\text{g/m}^3$. Potwierdzono zanieczyszczenie lateksowych rękawic ochronnych cyklofosfamidem (do $9,4 \mu\text{g}$ na parę) oraz przenikanie tego związku przez rękawice. Ilości wydalonego z moczem cyklo-

fosfamidu wahały się $0,2 \div 19,4 \mu\text{g}/24 \text{ h}$. Zdaniem autorów, przy przygotowywaniu leków dla pacjentów skóra jest znacznie istotniejszą drogą wchłaniania tego związku niż układ oddechowy. Podobny pogląd przedstawił Kromhout i wsp., nie wykluczając jednakże całkowite możliwości wchłaniania leków przeciwnowotworowych drogą inhalacyjną (Kromhout i wsp. 2000). Stwierdzili oni małe, lecz mierzalne stężenia tego związku, rzędu $0,5 \div 1,7 \text{ ng/m}^3$ w pomieszczeniu, w którym podawano cyklofosfamid pacjentom. Jak wspomniano, we wcześniejszych pracach wykazywano większe stężenia cyklofosfamidu w oddziałach szpitalnych, w których przygotowywano leki, wynosiły one $0,1 \div 10 \mu\text{g/m}^3$ (de Werk Neal i wsp. 1983; Sessink i wsp. 1994). W ponownej ocenie narażenia i skuteczności zastosowanych środków ochronnych stężenie cyklofosfamidu w powietrzu, na jakie byli narażeni technicy, wynosiło $0,06 \div 2,0 \mu\text{g/m}^3$. Zarówno maski ochronne, jak i wszystkie używane ochronne rękawice lateksowe były zanieczyszczone cyklofosfamidem, a w moczu techników stwierdzono cyklofosfamid w ilości do $2,6 \mu\text{g}$ w ciągu 5 dni. Nie stwierdzono zależności między ilością cyklofosfamidu wydalonego z moczem a ilościami przygotowywanych preparatów (Sessink i wsp. 1997). Cyklofosfamid o stężeniu do 130 ng/m^3 wykryto również pod wyciągiem pomieszczenia biologicznego bezpieczeństwa (Opiołka i wsp. 2000). Poziomy stężeń cyklofosfamidu na dłoniach pielęgniarek przy różnych wykonywanych czynnościach badali również Fransmann i wsp. (2005). Opracowane na podstawie wymienionych badań narażenie dermalne na ten związek (Fransmann i wsp. 2014) przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.

Narażenie dermalne pielęgniarek oddziałów onkologicznych na cyklofosfamid w holenderskich szpitalach
(Fransmann i wsp. 2014)

| Czynność | Częstość wykonywania czynności (maksimum) | Średnie arytm. stężenie CP na dłoniach (maksimum) ^a | Szacowany czas dermalnego narażenia |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Podawanie leku | co 8 dni (co 8 h) | 1,13 ng (16,2 ng) | 10 min |
| Czynności związane ze zbieraniem moczu i postępowanie z pobranym moczem | co 5 dni (co 11 h) | 18,56 ng (202,6 ng) | 5 min |
| Mycie pacjenta | co 15 dni (co 37 h) | 34,50 ng (788,1 ng) | 20 min |
| Zmiana pościeli | co 9 dni (co 11 h) | 40,00 ng (230,0 ng) | 10 min |
| Czynności związane z utrzymaniem czystości pomieszczeń | co 11 dni (co 48 h) | 12,50 ng (800,0 ng) | 20 min |

Objaśnienia:

^a Dane z pracy Fransmann i wsp. (2005) dotyczą wyłącznie pielęgniarek, które używały rękawic ochronnych.

W latach 1997-2000, w wyniku wprowadzenia nowych przepisów i wytycznych postępowania, czterokrotnie się zmniejszył procent pielęgniarek w holenderskich klinikach onkologicznych, u których wykrywano w moczu cyklofosfamid, trzykrotnie zmniejszył się również poziom stężeń tego związku w moczu, a znacznie statystycznie zmniejszyło się również zanieczyszczenie powierzchni stołów i rękawic (Fransman i wsp. 2007a). Nie stwierdzono również wykrywalnych ilości tego leku na skórze dłoni i odzieży ochronnej pracowników przemysłowej pralni, w której prano prześcieradła z klinik onkologicznych (Fransman i wsp. 2007b).

W około 30% próbek moczu pobranych od

personelu przygotowującego lub podającego cyklofosfamid pacjentom stwierdzono obecność tego związku o stężeniach $50 \div 10030$ ng/l (Turci i wsp. 2002). W podobnych badaniach, powtórzonych kilka lat później w siedmiu szpitalach w północnych Włoszech wśród personelu medycznego, stężenia cyklofosfamidu w moczu były mniejsze od oznaczalności metody we wszystkich pobranych próbkach, co świadczy o skuteczności zastosowanych procedur i wytycznych (Turci i wsp. 2010; Sabatini i wsp. 2012).

Zakresy ilości cyklofosfamidu wykrytego w moczu pracowników medycznych zestawione przez Sessinka i wsp. (1995) przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3.

Ilości cyklofosfamidu wykryte w moczu poszczególnych grup pracowników medycznych (Sessink i wsp. 1995)

| Grupa badana | Liczba pracowników | Liczba dni zbierania próbek moczu | Średnia ilość ^a (zakres) cyklofosfamidu w moczu, $\mu\text{g/d}$ |
|---------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Pracownicy służby zdrowia | 20 | 4 | 0,39 (0 ÷ 2,5) |
| Pielęgniarki | 2 | 57 | 0,47 (0,43 ÷ 0,51) |
| Technicy farmaceutyczni | 2 | 2 | 0 |
| Technicy farmaceutyczni | 25 | 1 ÷ 2 | 0,5 (0 ÷ 0,5) |
| Weterynarze | 4 | 2 ÷ 5 | 0,5 (0 ÷ 0,2) |
| Technicy farmaceutyczni | 9 | 1 ÷ 2 | 1,36 (0 ÷ 10,05) |
| Technicy farmaceutyczni | 9 | 5 | 0,16 (0 ÷ 0,51) |
| Pielęgniarki | 8 | 1 | 0,79 (0 ÷ 2,9) |
| Technicy farmaceutyczni | 1 | | |
| Salowe | 2 | | |

cd. tab. 3

| Grupa badana | Liczba pracowników | Liczba dni zbierania próbek moczu | Średnia ilość ^a (zakres) cyklofosfamidu w moczu, µg/d |
|-------------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Pielęgniarki | 7 | 2 ÷ 4 | 0,80 (0 ÷ 4,2) |
| Technicy farmaceutyczni | 8 | 8 ÷ 16 | 0,18 (0,01 ÷ 0,53) |

Objaśnienia:

^a Wyniki mniejsze od oznaczalności metody zapisywano jako „0”.

W 10 badanych amerykańskich szpitalach, jedynie w jednym stwierdzono obecność cyklofosfamidu o stężeniu 370 ng/m³ w powietrzu pomieszczenia, w którym przygotowywano leki dla pacjentów. W pozostałych 9 szpitalach stężenia tego związku były mniejsze od oznaczalności metody (*de Werk Neal* i wsp. 1983).

W jednym z japońskich szpitali onkologicznych cyklofosfamid był obecny w moczu wszystkich 4 farmaceutów przygotowujących leki (średni poziom 185,3 ng/24 h). Po zmianie procedury postępowania średni poziom cyklofosfamidu wynosił 47,4 ng/24 h i był zależny od ilości leków. Cyklofosfamid był również obecny na powierzchniach pomieszczeń, w których przygotowywano leki, w ilości 0,01 ÷ 0,09 ng/cm², a po zmianie procedury stężenia związku wynosiły od poniżej oznaczalności metody do 0,06 ng/cm², przy czym większość wyników nie przekraczała 0,01 ng/cm² (*Tanimura* i wsp. 2009).

Cyklofosfamid wykrywano również na powierzchniach pomieszczeń, w których przygotowano leki do terapii antynowotworowej w szpitalach kanadyjskich, zarówno w badaniach pilotowych (średnie stężenie 0,114 ng/cm²), (*Chu* i wsp. 2011), jak i w badaniach kompleksowych obejmujących 33 szpitale – 75. procentyl stężenia cyklofosfamidu w 2012 r. wynosił 9,4 pg/cm² (*Merger* i wsp. 2014). Związek był także stwierdzony w moczu zatrudnionych na oddziałach onkologicznych pielęgniarek. Średni poziom wydalania cyklofosfamidu z moczem wynosił 162 ng/24 h, a maksymalny – 474 ng/24 h (*Ramphal* i wsp. 2014).

Narażenie zawodowe personelu medycz-

nego na cyklofosfamid w dużym stopniu zależy od jakości zarządzania ryzykiem: szkolenia personelu, odpowiednich procedur postępowania podczas przygotowywania leków cytostatycznych i ich przestrzegania, skutecznych środków ochrony indywidualnej, a także odpowiednio zaprojektowanych i wyposażonych pomieszczeń, w których leki te są przygotowywane. W badaniach przeprowadzonych w dużym, rejonowym szpitalu w Wielkiej Brytanii stężenia cyklofosfamidu w moczu personelu przygotowującego leki cytostatyczne były mniejsze od oznaczalności metody, a jednorazowe lateksowe rękawice ochronne były zanieczyszczone w minimalnym stopniu i to tylko u niektórych pielęgniarek podających leki, natomiast cyklofosfamidu nie wykryto na powierzchniach w pomieszczeniach, w których leki były przechowywane. W szpitalu tym przygotowywano i podawano pacjentom oprócz cyklofosfamidu również: fosfamid, metotreksat i cisplatynę (*Ziegler* i wsp. 2002).

Zgodnie z danymi, nadesłanymi przez zakłady pracy do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje Chemiczne, ich Mieszanki, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym w Łodzi, w 2001 r. narażonych zawodowo na cyklofosfamid było w Polsce 1476 osób (*Konieczko* i wsp. 2004). Dane z późniejszych lat nie są dostępne, ze względu na usunięcie cyklofosfamidu w 2004 r. z urzędowej listy czynników rakotwórczych. W związku z wydaniem w 2012 r. nowego rozporządzenia w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym

lub mutagennym w środowisku pracy (Rozporządzenie... 2012), do bazy danych o narażeniu na czynniki rakotwórcze zaczęły napływać wstępne informacje o narażeniu zawodowym na cyklofosfamid, ale są one obecnie jedynie fragmentaryczne.

Zgodnie z raportem Krajowego Konsultanta

w dziedzinie pielęgniarstwa onkologicznego w 2010 r. (dane niepełne, obejmujące jedynie 12 województw) liczba pielęgniarek w placówkach onkologicznych wynosiła łącznie 5077, z czego 215 posiadało specjalizację w dziedzinie pielęgniarstwa onkologicznego (Raport... 2010).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Zatrucia ostre

W piśmiennictwie i komputerowych bazach danych informacje na temat ostrych zatruc ludzi cyklofosfamidem są bardzo nieliczne.

Po dużych dawkach cyklofosfamidu, podawanych przy przeszczepach szpiku kostnego, może dochodzić do śmiertelnej kardiomiopatii. *Mills* i *Roberts* informowali, na podstawie przeglądu brytyjskiego piśmiennictwa, o 9 takich wypadkach, natomiast dwa inne opisali – podawane dawki cyklofosfamidu wynosiły 144 ÷ 270 mg/kg mc., a śmierć następowała od 5 do 15 dni po podaniu i towarzyszyła jej: martwica mięśnia sercowego, krwotok i wysięk osierdziowy (*Mills, Roberts 1979*).

Obserwacje kliniczne

Poniżej przedstawiono działania niepożądane, jakie mogą wystąpić u pacjentów podczas stosowania cyklofosfamidu (Endoxanu) jako leku (*Baxter 2009*). Zaliczono do nich:

- zaburzenia ogólne i zmiany w miejscu podania (ciężkie zahamowanie czynności szpiku kostnego, gorączka neutropeniczna, wtórne zakażenia – zapalenie płuc rozwijające się w sepsę)
- nowotwory łagodne i złośliwe (rak pęcherza moczowego)
- zmiany w morfologii krwi oraz w układzie chłonnym (zahamowanie czynności szpiku kostnego z leukopenią, neutropenią, trombocytopenią, związane ze

zwiększonym ryzykiem wystąpienia krwawienia i niedokrwistości

- zaburzenia naczyniowe w układzie immunologicznym (choroba zakrzepowo-zatorowa i niedokrwienie obwodowe, zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC) lub zespół hemolityczno-mocznicowy)
- zaburzenia wątroby i dróg żółciowych (wzrost aktywności enzymów wątrobowych, żółtaczkę z cholestazą, zespół zamknięcia żył wątrobowych)
- zaburzenia nerek i dróg moczowych (zapalenie pęcherza, niewydolność nerek, toksyczna nefropatia, zaburzenie czynności kanalików nerkowych)
- zaburzenia żołądka i jelit (anoreksja, biegunka, zaparcia i stany zapalne błony śluzowej, krwawienia z żołądka i jelit, krwotoczne zapalenie okrężnicy, ostre zapalenie trzustki)
- zaburzenia układu nerwowego (napadowe zawroty głowy, parestezja, neuropatia obwodowa, polineuropatia, jak również ból neuropatyczny i zaburzenia smaku oraz drgawki)
- niewyraźne widzenie
- kardiotoxycywność (zmiany w ciśnieniu krwi, zmiany w EKG i niemierność, wtórna kardiomiopatia ze zmniejszoną frakcją wyrzutową lewej komory (LVEF) i niewydolnością serca, w bardzo rzadkich przypadkach zakończoną śmiercią)

- reakcje nadwrażliwości (wysypka, dreszcze, gorączka, tachykardia, skurcz oskrzeli, duszność, obrzęk, uderzenia gorąca, zmniejszenie ciśnienia krwi, wstrząs anafilaktyczny)
- zaburzenia endokrynologiczne (zespół nieadekwatnej sekrecji hormonu antydiuretycznego, zaburzenia owulacji)
- zaburzenia metabolizmu i odżywiania (anoreksja)
- zaburzenia mięśniowo-szkieletowe i tkanki łącznej (osłabienie mięśni)
- zaburzenia skóry i tkanki podskórnej (łysienie, odbarwienie dłoni, paznokci, spodu stóp)
- zaburzenia układu oddechowego (nieodtlenienie, skurcz oskrzeli, duszność lub kaszel, śródmiąższowe zapalenie płuc, zwłóknienia płuc)
- zaburzenia układu rozrodczego oraz endokrynologiczne (zaburzenia spermatogenezy, zaburzenia owulacji).

Działanie przewlekłe

Głównym skutkiem działania cyklofosfamidu na układ krwiotwórczy jest leukopenia (Bergsagel i wsp. 1968; Stott i wsp. 1977).

Najczęstszym skutkiem ubocznym terapii chorób autoimmunologicznych cyklofosfamidem jest działanie toksyczne na pęcherz moczowy. W wyniku wielomiesięcznego (średnio 15 miesięcy) podawania cyklofosfamidu w dawkach 1,3 ÷ 1,5 mg/kg mc. (łącznie dawki 6 ÷ 74 g) 46 pacjentom chorym na: układowy toczeń rumieniowaty, ziarniniak Wegenera, zespół hipereozynofilowy i zespół nerczycowy, 13 pacjentów miało problemy z pęcherzem. Stwierdzono: 6 przypadków chronicznego zapalenia pęcherza, 4 przypadki ostrego krwotocznego zapalenia pęcherza i 3 przypadki zmian cytologicznych (Aptekar i wsp. 1973).

Bennett podaje, że częstość występowania zapalenia pęcherza u pacjentów leczonych cyklofosfamidem wynosi 4 ÷ 36% (Bennett 1974), natomiast według Plotza krwotoczne zapalenie pęcherza wystąpiło u 7, spośród 54 pacjentów, którym cyklofosfamid podawano w ramach terapii na artretyzm reumatoidalny lub toczeń rumieniowaty (Plotz i wsp. 1979), a u 25% dzieci leczonych tym związkiem na choroby nowotworowe obserwowano zwłóknienie ścianek pęcherza (Johnson, Meadows 1971). Za toksyczne działanie cyklofosfamidu na pęcherz jest odpowiedzialna akroleina, będąca metabolitem cyklofosfamidu.

Monach i wsp. podają, na podstawie przeglądu piśmiennictwa dotyczącego nowotworowych oraz nienowotworowych skutków terapii chorób reumatoidalnych za pomocą cyklofosfamidu, że zapadalność pacjentów na krwotoczne zapalenie pęcherza była rzędu 12 ÷ 41%, a skutek ten występował u pacjentów, którzy otrzymywali ponad 100 g leku doustnie w ciągu ponad 30 miesięcy (Monach i wsp. 2010). Niektórzy (choć nieliczni) pacjenci wymagali transfuzji krwi, jednak nie stwierdzano upośledzenia czynności nerek w żadnej z omawianych w przeglądzie prac. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że zarówno zapadalność na nowotwory pęcherza, jak i na krwotoczne zapalenie pęcherza są zależne od skumulowanej dawki i okresu podawania cyklofosfamidu, jednakże ze względu na tę zgodność trudno ustalić związek przyczynowo-skutkowy między rakiem a zapaleniem pęcherza.

Natomiast przypadki zapalenia pęcherza są niezwykle rzadkie po dożylnym podawaniu leku. Zebrane przez Monacha i wsp. dane o zapadalności na krwotoczne zapalenie pęcherza w badaniach kohortowych pacjentów leczonych cyklofosfamidem na choroby autoimmunologiczne przedstawiono w tabeli 4. (Monach i wsp. 2010).

Tabela 4.

Zapadalność na krwotoczne zapalenie pęcherza u pacjentów, którym podawano doustnie cyklofosfamid w leczeniu chorób autoimmunologicznych (Monach i wsp. 2010)

| Rodzaj choroby | Dawka cyklofosfamidu | Sposób terapii | | | | Liczba pacjentów | | Piśmiennictwo |
|----------------|-----------------------|-----------------|----------|-------------------------|---------|------------------|--------------------|---------------------------------------------------------|
| | | dawka łączna, g | | okres terapii, miesiące | | łącznie | zapalenie pęcherza | |
| | | średnia | zakres | średnia | zakres | | | |
| SLE, WG, RA | 1,3 ÷ 1,5 mg/kg | 28 | 3 ÷ 74 | 15 | 3 ÷ 41 | 46 | 10 | <i>Aptekar</i> i wsp. 1973 |
| RA | 2 mg/kg | 26 | 19 ÷ 34 | 7 | 5 ÷ 9 | 24 | 4 | <i>Townes</i> i wsp. 1976 |
| SLE, RA | 1 ÷ 4 mg/kg | 48 | 2 ÷ 152 | 28 | 1 ÷ 91 | 54 | 7 | <i>Plotz</i> i wsp. 1979 |
| SLE | 1 ÷ 4 mg/kg | b.d. | b.d. | b.d. | b.d. | 40 | 6 | <i>Austin</i> i wsp. 1983 <i>Carette</i> i wsp. 1983 |
| WG | 1 ÷ 2 mg/kg | 101 | 5 ÷ 531 | 38 | 4 ÷ 144 | 111 | 17/45 ^a | <i>Stillwell</i> i wsp. 1988 |
| NHL | 100 mg/m ² | b.d. | b.d. | b.d. | b.d. | 471 | 33 | <i>Pederson-Bjergaard</i> i wsp. 1988 |
| SSc | 1 ÷ 2 mg/kg | b.d. | b.d. | 9 | 6 ÷ 12 | 14 | 2 | <i>Silver</i> i wsp. 1993 |
| RA | 50 ÷ 150 mg | 53 | b.d. | 32 | b.d. | 119 | 14 | <i>Radis</i> i wsp. 1995 |
| WG | 2 mg/kg | 124 | b.d. | 37 | b.d. | 145 | 42/51 ^b | <i>Talar-Williams</i> i wsp. 1996 |
| WG | 2 mg/kg | 129 | 42 ÷ 350 | 29 | 9 ÷ 77 | 142 | 17 | <i>Reinhold-Keller</i> i wsp. 2000 |

Objaśnienia:

SLE – układowy toczeń rumieniowaty.

WG – ziarniniak Wegenera.

RA – artretyzm reumoidalny.

NHL – chłoniaki niezłaznicze.

MPA – mikroskopowe zapalenie naczyń.

SSc – twardzina układowa.

^a – Mniejsza liczba ($n = 17$) dotyczy pacjentów, u których zapalenie pęcherza stwierdzono na podstawie krwimoczu lub potwierdzono cystoskopią; większa liczba ($n = 45$) była obliczona na podstawie procentu pacjentów z krwimoczem, u których zapalenie pęcherza potwierdzono za pomocą cystoskopii (65%).

^b – Mniejsza liczba ($n = 42$) dotyczy pacjentów, u których zapalenie pęcherza potwierdzono cystoskopią; większa liczba ($n = 51$) była obliczona na podstawie procentu pacjentów z krwimoczem, u których zapalenie pęcherza potwierdzono za pomocą cystoskopii (70%).

W pracy *Reinhold-Kellera* i wsp. pacjentom jako antidotum przeciw nowotworowemu działaniu cyklofosfamidu podawano 2-merkaptotanosulfonian sodu (mesna), (*Reinhold-Keller* i wsp. 2000).

U pacjentów stosujących cyklofosfamid dość powszechne było występowanie łysienia (*Deshayes* i wsp. 1971). Innymi objawami

stwierdzanymi u pacjentów otrzymujących ten lek były: retencja sodu i wody (*Steele* i wsp. 1973), zwłóknienie płuc (*Patel* i wsp. 1976; *Willson* 1978), zaburzenia widzenia (*Kende* i wsp. 1979), pigmentacja paznokci (*Shah* i wsp. 1975), zmiany w jądrach limfocytów (*Matěj-kova* 1975), jednakże rola cyklofosfamidu w tych przypadkach nie została wyjaśniona.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Głównym skutkiem działania hematologicznego cyklofosfamidu u: myszy, szczurów i psów, była leukopenia, a także zahamowanie

czynności szpiku kostnego i spadek liczby płytek krwi (*Wheeler* i wsp. 1962).

Podana dootrzewnowo pojedyncza dawka cyklofosfamidu spowodowała znaczną martwicę pęcherza oraz nabłonka kanalików oraz

miedniczek nerkowych u: myszy, szczurów i psów (*Campobasso, Berrino 1972; Koss 1967; Philips i wsp. 1961*). Umiarkowane uszkodzenia obserwowano w wątrobie (*Lavin, Koss 1971*). Przypuszcza się, że jest to skutkiem przemiany metabolicznej cyklofosfamidu do akroleiny (*Brock i wsp. 1979a; Cox 1979*). Temu skutkowi zapobiega stosowanie z cyklofosfamidem takich substancji reagujących z akroleiną, jak np. sulfonianu 2-merkaptoetanosodowego lub *N*-acetylo-*L*-cysteiny (*Brock i wsp. 1979a; 1979b; Cox, Abel 1979*). Po martwicy tkanek pęcherza następowała szybka regeneracja nabłonka komórek diploidalnych, a następnie wytwarzanie komórek tetraploidalnych, oktoploidalnych oraz, okazjonalnie, również hyperploidalnych (*Clayson, Cooper 1969; Locher, Cooper 1970*).

Po jednorazowym podaniu dootrzewnowo samcom myszy szczepu BALB/c dawki 100 mg/kg mc. cyklofosfamidu w ciągu 3 tygodni w pęcherzykach płucnych wytworzyły się rozproszone ogniska makrofagów. Ich rozmiar z czasem się zwiększał, a w płucach stwierdzono znacznie większą zawartość hydroksyproliny niż u zwierząt w grupie kontrolnej. Zmiany w płucach były nieodwracalne i po upływie roku od podania cyklofosfamidu u zwierząt stwierdzono wybroczyny w płucach i zmniejszenie wydolności płuc (*Morse i wsp. 1985*).

Wartości mediany dawek śmiertelnych cyklofosfamidu dla zwierząt laboratoryjnych podano w tabeli 5.

U zwierząt nie przeprowadzono badań toksyczności inhalacyjnej i dermalnej cyklofosfamidu.

Tabela 5.

Mediany dawek śmiertelnych cyklofosfamidu dla zwierząt (RTECS 2014; IARC 1981)

| Gatunek zwierząt | Droga podania | Wartość LD ₅₀ , mg/kg mc. |
|------------------|---------------|--------------------------------------|
| Szczur | <i>per os</i> | 180 |
| | | 100 |
| Szczur | dożylna | 160 |
| | | 148 |
| Szczur | podskórna | 144 |
| Szczur | dootrzewnowa | 40 |
| Mysz | <i>per os</i> | 137 |
| Mysz | dootrzewnowa | 360 |
| | | 159 |
| Mysz | podskórna | 370 |
| | | 200 |
| Mysz | dożylna | 310 |
| | | 140 |
| Świnka morska | dożylna | 400 |
| Chomik | <i>per os</i> | 763 |
| Chomik | dożylna | 429 |
| Królik | dożylna | 130 |
| Pies | dożylna | 40 |

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Dane na temat przewlekłej i podprzewlekłej toksyczności cyklofosfamidu są nieliczne, gdyż w długotrwałych doświadczeniach badano głównie jego działanie rakotwórcze, genotoksyczne oraz wpływ na rozrodczość.

Przedłużone podawanie gryzoniom cyklofosfamidu wywoływało patologiczne zmiany strukturalne w takich różnych narządach, jak: płuca, jelita, śledziona i wątroba (Jaśkiewicz 1979; Mansi i wsp. 1979; Stoichkova i wsp. 1979), aczkolwiek w innym, przedłużonym eksperymencie obserwowano tylko niewielkie zmiany w wątro-

bie (Hegewald, Barenwald 1972).

Podawany drogą pokarmową cyklofosfamid u szczurów: hamował mitozę, zmniejszał długość rzęsków i powodował degenerację śluzówki jelit (Habibullah i wsp. 1979).

Po podawaniu szczurom drogą pokarmową dawki 12 mg/kg mc. cyklofosfamidu przez 12 miesięcy toksyczne działanie związku na wątrobę było umiarkowane, a uszkodzenia były niespecyficzne: zmiany histologiczne, nacieczenia limfomonocytyczne i zwłóknienia w okolicy żyły wrotnej oraz krwotoki śródmiąższowe. Podobne uszkodzenia, ale w mniejszym stopniu występowały również u zwierząt w grupie kontrolnej (Gismondi i wsp. 1980).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Działanie mutagenne w warunkach in vitro

Zgodnie z oceną przedstawioną w monografii IARC cyklofosfamid wywoływał: aberracje chromosomowe, wymianę chromatyd siostrzanych i uszkodzenia DNA w ludzkich komórkach w warunkach in vitro (IARC 1987b). W warunkach in vitro związek indukował: zmiany morfologiczne, aberracje chromosomowe, wymianę chromatyd siostrzanych, mutacje i nieplanową syntezę DNA (UDS) w komórkach gryzoni. Indukował również: aneuploidię, mutacje i rekombinacje genów oraz uszkodzenie DNA u grzybów. Działał jako czynnik mutageny i uszkadzający DNA u bakterii.

Mutagenność cyklofosfamidu u *Salmonella Typhimurium* wzrastała pod wpływem frakcji S9 z komórek wątroby (Paolini i wsp. 1991). Frakcja S9 z komórek wątroby była bardziej skuteczna w aktywacji działania mutagennego cyklofosfamidu od frakcji S9 z komórek nerwowych ciężarnych myszy na *Salmonella Typhimurium*, a także w indukowaniu wymiany chromatyd siostrzanych w ludzkich limfocy-

tach z krwi obwodowej oraz w komórkach jajnika chomika chińskiego (Winckler i wsp. 1987).

Rekombinowany plazmid zawierający pełnej długości łańcuch cDNA kodujący cytochrom CYP2B1 u szczura wprowadzony do *Saccharomyces cerevisiae* zwiększał częstość mutacji indukowanych przez cyklofosfamid (Black i wsp. 1989). Chromosom CYP2B1 w liniach komórkowych SD1 chomika chińskiego szczepu V79 także wzmacniał działanie mutagenne cyklofosfamidu (oporność na 6-tioguaninę), podczas gdy chromosom CYP1A1 w liniach komórkowych XEM2 takiego działania nie wykazywał (Doehmer i wsp. 1990; 1992).

Cyklofosfamid wykazywał słabą mutagenność (wykrywaną za pomocą indukcji oporności na 6-tioguaninę) w zróżnicowanych wątrobowych komórkach Reubera H4IIEC3/G-, lecz był w znacznym stopniu cytotoksyczny i klastogeny (tworzenie mikrojąder), (Roscher, Wiebel 1988), a także mutageny dla linii komórkowej komórek nabłonkowych wątroby chomika chińskiego (Turchi i wsp. 1992) i komórek płuca chomika chińskiego w obecności frakcji S9 (Kikuno i wsp. 1995).

Cyklofosfamid indukował wymianę chromatyd siostrzanych w komórkach szpiku kostnego i śledziony myszy (*Soler-Niedziela* i wsp. 1989) oraz mikrojąder w chłoniaku komórek L5178Y tk+/- myszy (*Kirsch-Volders* i wsp. 2003) i w macierzystych komórkach V79 w obecności frakcji S9 z wątroby szczura (*Kalweit* i wsp. 1999). Spośród kilku badanych linii komórkowych V79 utworzonych, aby odwzorować chromosom CYP szczura, wzrost liczby mikrojąder (*Ellard* i wsp. 1991) i wymian chromatyd siostrzanych (*Kulka* i wsp. 1993) zaobserwowano w przypadku komórek imitujących CYP2B1.

Ludzkie limfocyty T były bardziej podatne na aberracje chromosomalne i wymianę chromatyd siostrzanych indukowanych cyklofosfamidem w obecności frakcji S9 z wątroby szczura niż limfocyty B (*Miller* 1991a; 1991b). Takiej różnicy między limfocytami T i B nie stwierdzono w komórkach myszy poddanych działaniu 4-hydrocyklofosfamidu czy iperytu fosforoamidowego (*Kwanyuen* i wsp. 1990).

W innej pracy (*Kugler* i wsp. 1987) mikrosomalna mieszanina z wątroby szczura była bardziej skuteczna od frakcji S9 z wątroby szczura w aktywacji indukowanych przez cyklofosfamid aberracji chromosomalnych. Ludzkie limfocyty od kobiet z przenoszącym mutacje w raku piersi genem BRCA1 były bardziej podatne na indukcję mikrojąder niż od kobiet nieposiadających tego genu (*Trenz* i wsp. 2003).

Komórki raka wątroby Hep G2 u ludzi były podatne na indukowane cyklofosfamidem wymiany chromatyd siostrzanych i indukcję mikrojąder (*Natarajan, Darroudi* 1991), a w analogicznym badaniu wykazano, że mikrosomalna frakcja S9 tych komórek jest zdolna do indukcji mikrojąder i wymiany chromatyd siostrzanych w komórkach jajnika chomika chińskiego (*Darroudi, Natarajan* 1993).

Cyklofosfamid w obecności frakcji S9 z wątroby szczura wywoływał aberracje chromosomalne w komórkach miazgi zębowej (*Tsutsui* i wsp. 2006).

Cyklofosfamid w obecności frakcji S9 z wątroby szczura indukował transformacje morfologiczne komórek fibroblastów embrionów myszy szczepu BALB/3T3 (*McCarvill* i wsp. 1990).

Działanie mutagenne w warunkach in vivo

Stwierdzono, że cyklofosfamid wiąże się z DNA w komórkach: nerki, wątroby i płuca u myszy, a także wywołuje dominujące letalne mutacje (aberracje chromosomalne, wymiana chromatyd siostrzanych, indukcja mikrojąder) i uszkodzenia DNA u gryzoni w warunkach in vivo. U *Drosophila melanogaster* wywoływał: aneuploidię, dziedziczone translokacje i somatyczne, związane z płcią recesywne mutacje letalne. U pacjentów, którym podawano cyklofosfamid, stwierdzano zwiększoną częstość aberracji chromosomalnych i wymian chromatyd siostrzanych w limfocytach krwi obwodowej i szpiku kostnym (IARC 1987b).

U *Drosophila melanogaster* wywoływał pęknięcia chromosomów w spermatocytach (*Zijlstra, Vogel* 1989).

Mocz pracowników zatrudnionych przy produkcji i tabletkowaniu cyklofosfamidu nie był mutageny dla *Salmonella Typhimurium* szczepu TA 1535, natomiast wszystkie próbki moczu pobrane od personelu medycznego i pacjentów otrzymujących cyklofosfamid oddziały onkologicznego okazały się mutagenne (*Sorsa* i wsp. 1988).

W wielu pracach badano mutagenne działanie cyklofosfamidu na transgeniczne myszy. W szczepie MutaMouse stwierdzono indukowane mutacje w komórkach szpiku kostnego (innych tkanek nie badano), (*Hoorn* i wsp. 1993). U myszy Big Blue zwiększona częstość mutacji występowała w wątrobie, ale nie w jądrach czy śledzionie (*Hoyes* i wsp. 1998), a w innym badaniu w płucu i pęcherzu moczowym, lecz nie w nerce, szpiku kostnym ani w komórkach T śledziony (*Gorelick* i wsp. 1999).

U szczurów cyklofosfamid wywoływał mutacje (opisane jako „zwykłe delecje”) w mitochondrialnym DNA wątroby. Stwierdzono, że czynnikiem chroniącym przed uszkodzeniem był kwas foliowy (Branda i wsp. 2002).

Przeprowadzono znaczną liczbę badań właściwości cytogenetycznych cyklofosfamidu na: trąskach, gryzoniach, psach i naczelnych, uzyskując pozytywne niezmiennie wyniki, które zamieszczono w tabeli 6.

Tabela 6.

Badania cytogenetyczne cyklofosfamidu u zwierząt doświadczalnych, w których uzyskano wyniki pozytywne (IARC 2011)

| Gatunek zwierząt | Typ badania | Dodatkowe informacje |
|------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mysz | SCE | komórki szpiku kostnego; zmniejszenie częstości ze wzrostem liczby podziałów komórki |
| Mysz | SCE | komórki szpiku kostnego; porównanie myszy dzikich z laboratoryjnymi |
| Mysz | MN | komórki nabłonka pęcherza |
| Mysz | CA | komórki szpiku kostnego; wpływ niedożywienia i alkoholu |
| Mysz | MN | retikulocyty z krwi obwodowej i PCE w szpiku kostnym |
| Mysz | MN | limfocyty śledziony |
| Mysz | MN | PCE w szpiku kostnym; porównanie dróg podania <i>per os</i> i dootrzewnowo |
| Mysz | MN | porównanie 7 narządów (szpik kostny, przedżołądek, żołądek, jelito cienkie, jelito grube, pęcherz moczowy, płuco) |
| Mysz | rekombinacje wewnątrz-chromosomalne | komórki śledziony; myszy transgeniczne |
| Mysz | MN | PCE komórek szpiku osobników dorosłych i komórek wątrobowych płodów; porównanie: samców, samic, ciężarnych samic i płodów |
| Mysz | MN, SCE | narażenie transplacentalne, komórki wątrobowe płodów |
| Mysz | MN, CA | komórki szpiku i krwi obwodowej (CA) i erytrocyty z krwi obwodowej (MN); chroniczne doświadczenie z podawaniem cyklofosfamidu drogą pokarmową, pozytywne wyniki w teście MN, negatywne w CA |
| Mysz | MN | komórki szpiku kostnego; badanie w warunkach <i>in vivo/in vitro</i> |
| Mysz | CA, SCE | komórki szpiku kostnego i śledziony; badanie w warunkach <i>in vivo/in vitro</i> vs. badanie <i>in vivo</i> |
| Mysz | SCE | komórki szpiku kostnego i śledziony; badanie w warunkach <i>in vivo/in vitro</i> vs. badanie <i>in vivo</i> |
| Mysz | MN | PCE z komórek szpiku kostnego (wyniki pozytywne); hepatocyty (wyniki negatywne) |
| Szczur | CA | komórki wątrobowe noworodków, narażenie <i>in utero</i> |
| Szczur | CA | komórki szpiku kostnego; porównanie komórek wątrobowych przed usunięciem i po częściowym usunięciu wątroby (hepatektomii) narażanych zwierząt |
| Szczur | CA, SCE | komórki szpiku kostnego; regeneracja hepatocytów (SCE) |
| Szczur | MN | porównanie retikulocytów z krwi obwodowej i komórek szpiku kostnego |
| Szczur | MN | komórki szpiku kostnego i retikulocyty z krwi obwodowej; porównanie 14 szczepów szczurów |
| Szczur | MN | komórki szpiku kostnego i retikulocyty z krwi obwodowej; badanie skutków starzenia |
| Szczur | MN | komórki pochwy przed okresem rui |

cd. tab. 6.

| Gatunek zwierząt | Typ badania | Dodatkowe informacje |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Szczur | CA, MN | komórki szpiku kostnego |
| Szczur | MN | komórki szpiku kostnego, śledzony i krwi obwodowej |
| Szczur | MN | embriony, narażenie w okresie przed implantacją |
| Szczur | MN, CA | komórki szpiku kostnego i śledzony; badanie w warunkach in vivo/in vitro |
| Traszka | MN | narażenie larw; krwinki czerwone |
| Mysz, chomik chiński | CA, SCE | komórki szpiku kostnego; porównanie różnych dróg podania |
| Szczur, mysz | MN, SCE, morfologia spermy | komórki szpiku kostnego (MN), limfocyty śledzony (SCE); szczury bardziej podatne niż myszy |
| Szczur, mysz, chomik chiński | MN, SCE | komórki szpiku kostnego; porównanie gatunków; podatność uszeregowana: szczur > mysz > chomik chiński |
| Szczur, mysz, chomik chiński, chomik armeński, świnka morska | CA | komórki szpiku kostnego; porównanie gatunków; podatność uszeregowana: świnka morska > szczur > mysz > chomik chiński > chomik armeński |
| Pies (Beagle) | MN | porównanie retikulocytów z krwi obwodowej i komórek szpiku kostnego |
| Małpa | MN | porównanie retikulocytów z krwi obwodowej i komórek szpiku kostnego |
| Małpa (marmozet) | MN | erytrocyty z krwi obwodowej |

Objaśnienia:

CA – aberracje chromosomalna.

MN – test mikrojądrowy.

PCE – test polichromicznych erytrocytów.

SCE – wymiana chromatyd siostrzanych.

Działanie genotoksyczne na ludzi

W znacznej liczbie pozycji w piśmiennictwie opisano tworzenie adduktów DNA u ludzi pod wpływem działania cyklofosfamidu.

Akroleinopochodne addukty DNA wykryto za pomocą metod immunochemicznych w leukocytach u chorych na raka pacjentów, którym podawano cyklofosfamid (*McDiarmid* i wsp. 1991).

W innym badaniu monoaddukty i wiązania krzyżowe pochodzące od iperytu fosforoamidowego stwierdzono u pacjenta, któremu podano 1 g/m² cyklofosfamidu (*Souliotis* i wsp. 2003).

U pacjentów otrzymujących cyklofosfamid stwierdzono również zwiększenie uszkodzeń DNA (tworzenie komet) w limfocytach (*Hartmann* i wsp. 1995).

Zwiększoną, w porównaniu z grupą kontrolną, częstość występowania niektórych biomarkerów genotoksyczności, m.in.: mutacje w locus fosforybozylotransferazy hipoksantynoguaninowej (HPRT), (*Palmer* i wsp.

1986; 1988; *Tates* i wsp. 1994; *Sanderson* i wsp. 2001) i wymiany chromatyd siostrzanych (*Raposa, Várkonyi* 1987; *McDiarmid* i wsp. 1990; *Sardaş* i wsp. 1994; *Mertens* i wsp. 1995; *Hartmann* i wsp. 1995) obserwowano w leukocytach pacjentów, którym podawano cyklofosfamid.

U personelu medycznego narażonego na cyklofosfamid stwierdzono zwiększenie częstości aberracji chromosomalnych (*Sessink* i wsp. 1994; *Rubes* i wsp. 1998; *Kevekordes* i wsp. 1998; *Burgaz* i wsp. 2002; *Mader* i wsp. 2008) i indukcji mikrojąder (*Yager* i wsp. 1988; *Tates* i wsp. 1994; *Kevekordes* i wsp. 1998; *Zúñiga* i wsp. 1996; *Burgaz* i wsp. 1999; *Rekhadevi* i wsp. 2007).

W kilku pracach stwierdzono również zwiększoną częstość indukcji mikrojąder w komórkach pobranych z policzka (*Cavallo* i wsp. 2005; *Rekhadevi* i wsp. 2007), lecz nie w komórkach z innych lokalizacji (*Burgaz* i wsp. 1999).

Działanie rakotwórcze na ludzi

Przypadki kliniczne

W piśmiennictwie opisano kilkadziesiąt przypadków raka u pacjentów, którym cyklofosfamid podawano jako lek na choroby nie-nowotworowe, głównie artretyzm reumatoidalny oraz przewlekłe zapalenie kłębuszków nerkowych, w tym:

- 17 przypadków ostrej nielimfatycznej białaczki (Cobau i wsp. 1973; Love, Sowa 1975; Cazalis i wsp. 1976; Roberts, Bell 1976; Seidenfeld i wsp. 1976; Tchernia i wsp. 1976; Chang, Geary 1977; Kapadia, Kaplan 1978; Mougeot-Martin i wsp. 1978; Casciato, Scott 1979; Hochberg, Shulman 1978; Kahn i wsp. 1979; Kapadia i wsp. 1980; Sheibani i wsp. 1980)
- 1 przypadek przewlekłej białaczki nielimfatycznej (Čáp, Mišiková 1975)
- 1 przypadek ostrej białaczki limfatycznej (Kuis i wsp. 1976); dwa raki pęcherza (Dale i Smith 1974; Chasko i wsp. 1980)
- 1 przypadek raka płaskokomórkowego skóry (Symington i wsp. 1977)
- 3 mięsaki siateczkowokomórkowe (Worlledge i wsp. 1968; Fosdick i wsp. 1969; Tannenbaum, Schur 1974)
- 1 przypadek choroby Hodgkina (Cameron i wsp. 1974)
- 1 czerniak (Manny i wsp. 1972); 2 glijaki mózgu (Starzl i wsp. 1973; Cameron i wsp. 1974)
- 1 rak szyjki macicy (Bashour i wsp. 1973)
- 1 mięsak opłucnej (Marks, Scholtz 1977).

Wśród wymienionych przypadków 10 dotyczyło sytuacji, w których oprócz cyklofosfamid stosowano chemioterapię za pomocą innych leków.

W opracowaniu IARC (1981) podano, że stwierdzono również 83 przypadki nowotworów wtórnych po podaniu cyklofosfamid w ramach terapii chorób nowotworowych: 17 raków pęcherza, 1 chłoniak siateczkowokomórkowy, 1 płaskokomórkowy rak skóry i 2 mięsaki siateczkowokomórkowe komórek plazmy. W większości przypadków pacjentom podawano oprócz cyklofosfamid również inne leki chemioterapeutyczne, a jedynie w 23 z wymienionych przypadków cyklofosfamid był jedynym stosowanym lekiem, który podawano: 12 chorym z rakiem pęcherza, 8 pacjentom chorym na ostrą białaczkę nielimfatyczną, choremu na mięsaka siateczkowokomórkowego oraz dwóm chorym na mięsaka siateczkowokomórkowych komórek osocza (IARC 1981).

Wyniki badań epidemiologicznych

W rozdziale zamieszczono wyniki badań epidemiologicznych personelu medycznego zatrudnionego przy przygotowywaniu i podawaniu leków zawierających cyklofosfamid. Interpretacja wyników badań epidemiologicznych dotyczących pacjentów jest utrudniona ze względu na stosunkowo niewielką liczbę przypadków oraz trudność oddzielenia cyklofosfamid od innych czynników, stosowanych w ramach chemioterapii, a także radioterapii.

Bezpośrednie oszacowanie ryzyka nowotworów u personelu medycznego jest trudne ze względu na: bardzo małą spodziewaną liczbę nowotworów, małe dawki cyklofosfamid, trudność oddzielenia narażenia na cyklofosfamid od narażenia na inne czynniki, stosowane w szpitalach w ramach chemioterapii, a także problemy związane z ustaleniem lub oszacowaniem wielkości wchłoniętej dawki. Dlatego do celów oceny ryzyka wykorzystuje się najczęściej dane z epidemiologicznych badań pacjentów lub wyniki otrzymane w doświadczalnych badaniach

zwierząt laboratoryjnych.

Na podstawie wyników badań rakotwórczości u zwierząt (*Schmähl, Habs 1979*) oraz u pacjentów, którym podawano cyklofosfamid (nowotwory wtórne), (*Baker i wsp. 1987; Greene i wsp. 1986*), *Sessink i wsp. (1995)* próbowali obliczyć ryzyko nowotworów wśród personelu medycznego. Wchłaniane przez pielęgniarki dawki tego związku, wynoszące $3,6 \div 18 \mu\text{g}/\text{dzień}$, oszacowali na podstawie poziomu cyklofosfamidu w moczu. Zgodnie z wyliczeniami całonocne ryzyko wystąpienia raka u pracownika służby zdrowia (rak pęcherza u mężczyzny i białaczka u kobiet i mężczyzn) o masie ciała 70 kg narażonego na działanie cyklofosfamidu przez 200 dni w roku dla 40-letniego stażu jest rzędu $95 \div 600$ na milion, przy czym ryzyko białaczki jest znacznie mniejsze niż raka pęcherza.

Wyniki *Greene'a* i wsp. wykorzystali również *Fransmann* i wsp. do oszacowania skumulowanego ryzyka białaczki u holenderskich pielęgniarek onkologicznych aplikujących pacjentom cyklofosfamid w ciągu 40 lat narażenia zawodowego (*Greene i wsp. 1986; Fransmann i wsp. 2014*). Zamiast stężenia

cyklofosfamidu w moczu, badacze wykorzystali poziomy jego metabolitów – akroleiny i iperytu fosforamidowego w szpiku kostnym, obliczone na podstawie własnych danych o narażeniu dermalnym w szpitalach holenderskich (tab. 2.) z zastosowaniem fizjologicznie uzasadnionego modelu farmakokinetycznego (*the physiologically based pharmacokinetics model, PBPK model*). Oszacowane ryzyko białaczki dla pielęgniarek wynosi 1,04 dodatkowych nowotworów na milion pielęgniarek z 40-letnim stażem, dożywających 80. roku życia.

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Działanie rakotwórcze cyklofosfamidu badano na myszach i szczurach, którym związek podawano: drogą *per os*, za pomocą iniekcji podskórnych i nanoszono na skórę u myszy, dożylnie u szczurów, dootrzewnowo u myszy i szczurów oraz narażano ciężarne myszy. Wyniki badań zebrano w tabeli 8. Podane w tabeli oceny istotności statystycznej wyników badań zostały dokonane przez Grupę Ekspertów IARC za pomocą testu Fishera (IARC 2011).

Tabela 8.

Zestawienie wyników badań działania rakotwórczego cyklofosfamidu na zwierzęta według IARC (2011)

| Droga podania, gatunek zwierząt, szczerp (płeć), wiek, czas trwania doświadczenia | Dawki, sposób podawania; początkowa liczba zwierząt w grupie | Liczba i rodzaj nowotworów | Istotność statystyczna | Piśmiennictwo; uwagi |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------|
| Droga pokarmowa | | | | |
| Mysz, Tg ras H2/CB6F1 oraz B6C6F1 (M), 9 wk, 26 wk | 0; 10; 30 mg/kg mc. sondą (w wodzie, obj. nie podano), 2 razy w tygodniu przez 25 tyg.; liczba/w grupie: nie podano | Tg ras H2/CB6F1: płuco (gruczolaki) – 0/9; 3/16; 3/27 mnogość: 0; 0,19; 0,11/mysz B6C6F1: płuco (gruczolaki) – 0/6; 2/18; 2/20 mnogość: 0; 0,11; 0,10/mysz | nieznamiennie statystycznie | <i>Yamamoto</i> i wsp. 1996; czystość farmaceutyczna |

cd. tab. 8.

| Droga podania, gatunek zwierząt, szczep (płeć), wiek, czas trwania doświadczenia | Dawki, sposób podawania; początkowa liczba zwierząt w grupie | Liczba i rodzaj nowotworów | Istotność statystyczna | Piśmiennictwo; uwagi |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mysz, Tg.AC (M, F), 8 ÷ 9 wk 27 wk | 0; 10; 30; 60 mg/kg mc. sondą (w 50-procentowym etanolu), obj. nie podano); dwa razy w tyg. przez 26 tyg., 15/płeć/grupa | nowotwory skóry (we wszystkich lokalizacjach; histologicznie potwierdzone): 5/15; 1/2; 5/5; 5/15 (M); 2/15; 5/11; 11/11; 14/15 (F), brodawczaki płaskokomórkowe pochwy: 2/1; 4/11; 10/11; 12/15 (F), białaczka (erytrocytowa): 0/15; 0/15; 4/15; 1/15 (F) | $P < 0,0001$ dla 30 i 60 mg/kg mc. u samic $P \leq 0,0003$ dla 30 i 60 mg/kg mc. u samic $P < 0,05$, dla 30 mg/kg mc. | <i>Eastin</i> i wsp. 200; czystości nie podano; szczep Tg.AC to transgeniczne myszy, nosicielki onkogenu v-Ha-ras |
| Szczur, Sprague-Dawley (M, F), narażenie całożyciowe | 0; 0,31; 0,63; 1,25; 2,5 mg/kg mc. w wodzie pitnej, 5 razy w tyg., całe życie; 40/płeć/grupa | nowotwory złośliwe: 4/38; 11/34; 14/36; 15/35; 13/31 (M); 5/3; 11/37; 13/37; 11/33; 9/27 (F), pęcherz moczowy (raki): 0/38, 2/34, 2/36, 5/35, 7/31 (M); 0/34, 0/37, 0/37, 0/33, 1/27 (F), tkanka limfatyczna i krwiotwórcza (białaczka): 0/72; 3/71; 6/73; 6/68; 4/58 (M, F), układ nerwowy (mięśaki): 1/72; 7/71; 5/73; 6/68; 1/58 (M, F) | $P < 0,05$, dla 3 największych dawek $P \leq 0,02$ dla 2 największych dawek u samców $P \leq 0,04$ dla 3 największych dawek dla samców i samic łącznie $P \leq 0,05$ dla dawek 0,31 i 1,25 mg/kg dla samców i samic łącznie | <i>Schmährl, Habs</i> 1979; czystości nie podano |
| Szczur, Sprague-Dawley (M), 100-dniowe; 20 miesięcy | 0; 2,5 mg/kg mc. w wodzie pitnej, 5 razy w tyg. przez 20 mies. 100/grupa | pęcherz moczowy (brodawczaki lub raki komórek przejściowych): 0/63; 24/80, nowotwory układu nerwowego: 1/63; 11/80 | $P < 0,0001$ $P < 0,0076$ | <i>Habs, Schmährl</i> 1983; czystość podana jako "chemicznie czysty" |
| Podanie podskórne | | | | |
| Mysz, NMRI (F), 52 tygodnie | 0; 26 mg/kg mc./tyg. (w rozpuszczalniku, nie podano jakim), przez 5 tyg. 50/grupa | nowotwory złośliwe (w pierwszym rzędzie raki sutka): 3/46, 28/46 | $P < 0,001$ | <i>Schmährl, Osswald</i> 1970; czystość > 98-procentowa |
| Mysz, New Zealand Black/New Zealand White (F), 64 tygodnie | 0; 8 mg/kg mc. (w roztw. soli fizjolog., obj. nieznaną), codziennie przez 64 tyg., 16; 10 | nowotwory (głównie chłoniaki): 0/16, 6/10 | $P = 0,00002$ | <i>Walker, Bole</i> 1971; czystości nie podano |

cd. tab. 8.

| Droga podania, gatunek zwierząt, szcep (płeć), wiek, czas trwania doświadczenia | Dawki, sposób podawania; początkowa liczba zwierząt w grupie | Liczba i rodzaj nowotworów | Istotność statystyczna | Piśmiennictwo; uwagi |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mysz, New Zealand Black/New Zealand White (M, F), 93 tygodni | 0; 1; 8 mg/kg mc. (w 100 µl roztw. soli fizjolog.), codziennie przez 93 tyg., 20, 10, 10 dla każdej płci | nowotwory (głównie chłoniaki): 2/16, 3/9, 8/9 (M); 1/20, 1/10, 9/9 (F) | $P = 0,003$ dla dawki 8 mg/kg mc. u samców; $P < 0,0001$ dla dawki 8 mg/kg mc. u samic | <i>Walker, Bole</i> 1973; czystości nie podano |
| Mysz, New Zealand Black/New Zealand White (F), całożyciowo | 0; 5,7; 16 mg/kg mc. (w 100 µl roztw. soli fizjolog.), codziennie przez całe życie, 15, 17, 21 | nowotwory (głównie raki sutka): 0/13, 15/15, 17/19 raki sutka: 0/13, 5/15, 16/19 | $P < 0,0001$ dla grup otrzymujących dawki 5,7 i 16 mg/kg mc. | <i>Walker, Anver</i> 1979; czystości nie podano; podawania nie rozpoczęto jednocześnie we wszystkich grupach |
| Mysz, New Zealand Black/New Zealand White (F), 6-tygodniowe, narażenie całożyciowe | 0; 56 mg/kg mc. (w 100 µl roztw. soli fizjolog.), cotygodniowo przez całe życie, 15, 22 | nowotwory: 0/13, 17/19 | $P < 0,0001$ | <i>Walker Anver</i> 1983; czystości nie podano; podawania nie rozpoczęto jednocześnie we wszystkich grupach; nowotwory to głównie raki gruczołu sutkowego, gruczolaki płuc i chłoniaki |
| Mysz, NMRI & AKR (F), 7-tygodniowe, narażenie całożyciowe | 0; 13; 26 mg/kg mc. (w roztw. soli fizjolog., obj. nie podano), cotygodniowo przez całe życie, 30/grupa | białaczka (myszy NMRI): 2/30, 16/30, 10/30 białaczka (myszy AKR): 30/30, 25/30, 19/30 | $P \leq 0,027$ dla grup, którym podawano 13 i 26 mg/kg mc., $P \leq 0,006$ dla grup, którym podawano 13 i 26 mg/kg mc. | <i>Petru</i> i wsp. 1989; czystości nie podano; negatywny trend u myszy AKR |
| Nalożenie na skórę | | | | |
| Mysz, Tg.AC (M, F), 8- ÷ 9-tygodniowe 27 tygodni | 0; 10; 30; 90 mg/kg mc. (w 50-procentowym etanolu, 3,3 ml/kg mc.), 2 razy w tyg. przez 26 tyg., 15/płeć/grupa | raki skóry (w miejscu aplikacji): 1/15, 0/15, 2/15, 3/15 (M); 1/15, 0/15, 0/15, 2/15 (F) raki skóry (wszystkie lokalizacje na skórze): 1/15, 2/15, 3/15, 3/15 (M); 4/15, 3/15, 9/15, 14/15 (F) | nieznamiennie statystycznie $P = 0,0002$ dla samic, którym podawano 90 mg/kg | <i>Eastin</i> i wsp. 2001; czystości nie podano; szcep Tg.AC to transgeniczne myszy, nosicielki onkogenu v-Ha-ras |
| Dożylnie | | | | |
| Szczur, BR 46 (M) 23 miesiące | 0; 15 mg/kg mc. (nośnika i obj. nie podano), tygodniowo (łącznie dawka 750 mg/kg mc.) 50, 40 | nowotwory (łagodne i złośliwe łącznie): 1/50, 14/26 | $P < 0,001$ | <i>Schmähl</i> 1967; czystość > 98-procentowa |
| Szczur, BR 46 (M), 23 miesiące | 0 i 13 mg/kg mc. (nośnika i obj. nie podano), tygodniowo przez 52 tyg. 89, 48 | nowotwory: 3/65, 4/36 (łagodne); 4/65, 6/36 (złośliwe) | nieznamiennie statystycznie | <i>Schmähl, Osswald</i> 1970; czystość > 98-procentowa |

cd. tab. 8.

| Droga podania, gatunek zwierząt, szcep (płeć), wiek, czas trwania doświadczenia | Dawki, sposób podawania; początkowa liczba zwierząt w grupie | Liczba i rodzaj nowotworów | Istotność statystyczna | Piśmiennictwo; uwagi |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Szczur, BR 46 (M), 23 miesiące | 0 i 33 mg/kg mc. (nośnika i obj. nie podano), 5 razy w ciągu 2 tyg. 89, 96 | nowotwory: 3/65, 5/66 (łagodne); 4/65, 16/66 (złośliwe) | $P < 0,01$, nowotwory złośliwe | <i>Schmähl, Osswald</i> 1970; czystość > 98-procentowa |
| Szczur, Sprague-Dawley (M), 700 dni | 0 i 13 mg/kg mc. (nośnika i obj. nie podano), tygodniowo (łącznie dawka 670 mg/kg mc.) 52, 32 | nowotwory (złośliwe): 6/52, 14/32 | $P < 0,001$ | <i>Schmähl</i> 1974; czystość > 98-procentowa |
| Dootrzewnowo | | | | |
| Mysz, dd (M, F), 48 tygodni | 0 lub 5 mg/kg mc. (w roztw. soli fizjolog., 5 ml/kg), 2 iniekcje/tyg. przez 15 tyg. 20, 29 | płuco (gruczolaki lub raki): 1/20, 3/29; wątroba (gruczolaki): 0/20, 2/29; jądra (nowotwory komórek Leydiga): 0/20, 4/29; sutek (raki): 1/20, 3/29 | nieznamiennie statystycznie, nieznamiennie statystycznie, nieznamiennie statystycznie, nieznamiennie statystycznie | <i>Tokuoka</i> 1965; czystości nie podano |
| Mysz, A (M, F), 48 tygodni | 0 lub 5 mg/kg mc. (w roztw. soli fizjolog., 10 ml/kg), 2 iniekcje/tyg. przez 15 tyg. 16, 25 | płuco (gruczolaki lub raki): 2/16, 6/25; jądra (nowotwory komórek Leydiga): 0/16, 3/25 | nieznamiennie statystycznie, nieznamiennie statystycznie | <i>Tokuoka</i> 1965; czystości nie podano |
| Mysz, A/J (M, F, równo podzielone) 39 tygodni | 0; 32,2; 129; 516; 1609 $\mu\text{mol/kg}$ mc. (łącznie dawka: w 200 μl wody), 3 iniekcje/tyg. przez 4 tyg. 360, 30, 30, 30, 30 | płuco (gruczolaki lub gruczolakoraki) 107/339, 12/30, 11/26, 20/27, 2/4, (incidence); 0,38; 0,4; 0,6; 1,3; 2,5 (raki na mysz) | $P < 0,001$ (dla dawki 516 $\mu\text{mol/kg}$ mc., incidence) | <i>Shimkin</i> i wsp. 1966; czystości nie podano |
| Mysz, Swiss-Websterderived (M, F) 18 miesięcy | 0; 12; 25 mg/kg mc. (nośnika i obj. nie podano), 3 iniekcje/tyg. przez 6 mies. 101, 25, 25 (M) 153, 25, 25 (F) | płuco (gruczolaki lub gruczolakoraki): 10/101, 7/30 (M); 21/153, 10/35 (F), pęcherz (brodawczaki lub raki): 3/101 i 4/30 (M) | $P = 0,031$ (M) oraz $P = 0,027$ (F) (dawki 12 i 25 mg/kg mc. łącznie vs grupa kontrolna) $P = 0,048$ (dawki 12 i 25 mg/kg mc. vs grupa kontrolna) $P = 0,004$ | <i>Weisburger</i> i wsp. 1975; czystości nie podano; nie wszystkim myszom z grupy kontrolnej podano nośnik |
| Mysz, 129/Sv & 129/Sv X C57BL/6 Nf1+/+ & Nf1+/- (płci nie podano), 6- ÷ 10-tygodniowe 15 miesięcy | 0 lub 100 mg/kg mc./tyg. (nośnika i obj. nie podano) przez 6 tyg. 129/Sv Nf1+/+: 31 i 5 myszy 129/Sv Nf1+/-: 46 i 12 myszy 129/Sv X C57BL/6 Nf1+/+: 14 i 15 myszy 129/Sv X C57BL/6 Nf1+/-: 412 i 25 myszy | białaczka (129/Sv Nf1+/+): 2/31, 0/5, białaczka (129/Sv Nf1+/-): 8/46, 7/12, białaczka (129/Sv X C57BL/6 Nf1+/+): 0/14, 2/25, białaczka (129/Sv X C57BL/6 Nf1+/-): 0/12, 7/25 | | <i>Mahgoub</i> i wsp. 1999; czystości nie podano |

cd. tab. 8.

| Droga podania, gatunek zwierząt, szczepek (płeć), wiek, czas trwania doświadczenia | Dawki, sposób podawania; początkowa liczba zwierząt w grupie | Liczba i rodzaj nowotworów | Istotność statystyczna | Piśmiennictwo; uwagi |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Szczur, Sprague-Dawley (M, F) 18 miesięcy | 0; 5; 10 mg/kg mc. (nośnika i obj. nie podano), 3 iniekcje/tyg. przez 6 mies. 179, 25, 25 (M) 181, 25, 28 (F) | sutek (gruczolaki): 2/105 i 24/53 (F; dawki 5 i 10 mg/kg mc. łącznie). sutek (raki): 13/105 i 9/53 (F; dawki 5 i 10 mg/kg mc. łącznie) | $P = 0,028$ $P = 0,035$ | <i>Weisburger</i> i wsp. 1975; czystości nie podano; nie wszystkim myszom z grupy kontrolnej podano nośnik |
| Narażenie okołoporodowe | | | | |
| Mysz, CD-1 (M, F) 79 wk | iniekcje dootrzewnowe 0; 0,8; 4,0; 20;0 mg/kg mc. (w roztw. soli fizjolog. 10 µl/kg), w 1., 3. i 6. dniu po urodzeniu 30/płeć/grupa | płuco (gruczolaki): 0/28, 2/29, 4/27, 0/21 (M); 1/25, 2/27, 2/28, 3/21 (F) | $P < 0,05$ dla dawki 4 mg/kg mc. u samców (<i>life-table analysis</i>) | <i>Kelly</i> i wsp. 1974; czystości nie podano; dawka 20 mg/kg powodowała silne zmiany masy ciała i prawie 100% padnięć zwierząt |
| Mysz, CD-1 (M, F) 1 rok | <i>per os</i> 0; 10; 20; 40; 60 mg/kg mc., sondą (100 µl and 200 µl) w 8. i 15. dniu po urodzeniu (nośnika nie podano) 48 (grupa kontrolna), 24/płeć | wątroba (gruczolaki): 2/48, 2/24, 4/24, 6/24, 5/24 (M) wątroba (raki): 0/48, 0/24, 1/24, 6/24, 1/24 (M) płuco (gruczolaki): 3/48, 0/24, 8/24, 12/24, 13/24 (M); 7/48, 3/24, 6/24, 16/24, 13/24 (F) płuco (raki): 0/48, 1/24, 0/24, 6/24, 3/24 (M); 0/48, 1/24, 3/24, 3/24, 0/24 (F) gruczoł Harderiana (gruczolaki): 2/48, 1/24, 1/24, 1/24, 5/24 (F) | $P < 0,04$ dla dawek 40 i 60 mg/kg mc. $P = 0,0009$ dla 40 mg/kg mc. $P < 0,005$ dla dawek: 20; 40 i 60 mg/kg mc. (M); 40 i 60 mg/kg mc. (F) $P < 0,03$ dla dawek: 40 i 60 mg/kg mc. (M); 20 i 40 mg/kg mc. (F) $P < 0,04$ dla 60 mg/kg mc. | <i>McClain</i> i wsp. 2001; czystości nie podano |
| Narażenie przedurodzeniowe i pourodzeniowe | | | | |
| Mysz, BR 46 (M, F) 24 miesiące | iniekcje dootrzewnowe 25 mg/kg mc. w 14. dniu ciąży (nośnika i obj. nie podano); potomstwu (obie płci) podawano co 2 tygodnie, łącznie 30-krotnie, liczby początkowej nie podano | płuco (gruczolaki): męskie potomstwo 4/16, 2/16; żeńskie potomstwo 5/12 i 1/18 płuco (raki): męskie potomstwo 0/16, 3/16; żeńskie potomstwo 0/12, 4/18 | nieznamiennie statystycznie | <i>Roschlau, Justus</i> 1971; czystości nie podano |

Objaśnienia:

M – samce.

F – samice.

Tyg. – tygodnie.

mies. – miesiące.

mc. – masa ciała.

W wyniku podawania cyklofosfamid drogą pokarmową u transgenicznych myszy stwierdzano nowotwory skóry (Yamamoto i wsp. 1996; Eastin i wsp. 2001) oraz raki pęcherza, a u szczurów – białaczki i nowotwory układu nerwowego (Schmähl, Habs 1979; Habs, Schmähl 1983).

W badaniach przeprowadzonych przez Schmähla i Habsa grupom szczurów szczepu Sprague-Dawley (100-dniowych po 40 samców lub samic w grupie) podawano cyklofosfamid w wodzie pitnej 5 razy w tygodniu w dawkach: 2,5; 1,25; 0,63 lub 0,31 mg/kg mc. przez całe życie (Schmähl, Habs 1979). Zwierzęta obserwowano do padnięcia lub uśpienia. Średni czas przeżycia (*median survival times*, MST) zwierząt w grupach kontrolnych wynosił 759 dni u samców i 985 dni u samic; natomiast w grupie otrzymującej cyklofosfamid po dawce 2,5 mg/kg mc. MST wynosiło, odpowiednio, 638 i 642 dni, a w pozostałych grupach: po dawce 1,25 mg/kg mc. – 646 dni (samce) i 720 dni (samice); po dawce 0,63 mg/kg mc. – 808 dni (samce) i 889 dni (samice); po dawce 0,31 mg/kg mc. – 906 dni (samce) i 934 (samice). Nowotwory złośliwe wystąpiły u 4/38 (11%) samców i u 5/34 (15%) samic w grupie kontrolnej oraz u 13/31 (42%) samców i 9/27 (33%) samic, które otrzymały dawkę 2,5 mg/kg; u 15/35 (43%) samców i 11/33 (33%) samic, które otrzymały dawkę 1,25 mg/kg mc. cyklofosfamid; u 14/36 (39%) samców i 13/37 (35%) samic, które otrzymały dawkę 0,63 mg/kg mc. związku, oraz u 11/34 (32%) samców i 11/37 (30%) samic, którym podano dawkę 0,31 mg/kg mc. cyklofosfamid. W grupach, które otrzymały trzy największe dawki, udowodniono, że cyklofos-

famid był rakotwórczy ($P < 0,05$). Po zastosowaniu standaryzacji ze względu na wiek uzyskano logarymiczno-liniową zależność dawka-odpowiedź dla całkowitej kancerogenności cyklofosfamid, po wyeliminowaniu obciążenia (bias) ze względu na padnięcia zwierząt. U 97 narażanych zwierząt (53 samców i 44 samice), stwierdzono łącznie 115 nowotworów złośliwych w licznych narządach: u 16 samców i 1 samicy raki komórek przejściowych w pęcherzu moczowym; u 18 samców i 10 samic – brodawczaki pęcherza; natomiast nie obserwowano raków pęcherza u zwierząt w grupach kontrolnych, jedynie u jednej samicy wykryto brodawczaka. Różnica w liczbie nowotworów pęcherza moczowego była zależna od płci (znacznie większa u samców niż u samic $P < 0,05$). Wyliczono również, że jest zwiększone także ryzyko powstawania nowotworów szpiku kostnego, 19/270 (7%) względem 0/72 w grupie kontrolnej. Neurogenne mięsaki pochodzące z nerwów obwodowych wystąpiły u 19/270 (7%) narażanych szczurów, a 1/72 (1,4%) w grupie kontrolnej.

Grupa Robocza IARC, oceniająca działanie cyklofosfamid, zwróciła uwagę na fakt, że dawki powodujące wystąpienie nowotworów u szczurów w przeliczeniu na masę ciała były w wielu wypadkach mniejsze niż dawki tego leku stosowane w terapii u ludzi, a narządowo-specyficzne kancerogenne działanie cyklofosfamid na pęcherz moczowy u zwierząt doświadczalnych i u ludzi jest podobne (IARC 1981). Badanie to przez wielu badaczy zostało uznane za jedyne umożliwiające ocenę ryzyka narażenia na cyklofosfamid i w tym celu wyniki tego badania były wykorzystywane (tab. 9.).

Tabela 9.**Lokalizacja narządowa i częstość występowania nowotworów u szczurów Sprague-Dawley otrzymujących cyklofosfamid w wodzie do picia (Schmähl, Habs 1979)**

| Skutki narażenia – umiejscowienie i typ nowotworów, płeć | Dawka cyklofosfamidu, mg/kg masy ciała | | | | | Uwagi |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------------------------------------------------------------|
| | 0 | 0,31 | 0,63 | 1,25 | 2,5 | |
| Średni czas przeżycia (dni), samce | 759 | 906 | 808 | 646 | 638 | |
| Średni czas przeżycia (dni), samice | 985 | 934 | 889 | 720 | 642 | |
| Nowotwory złośliwe (łącznie), samce | 4/38 (11%) | 11/34 (32%) | 14/36 (39%) | 15/35 (43%) | 13/31(42%) | $P < 0,05$ dla 3 największych dawek |
| Nowotwory złośliwe (łącznie), samice | 5/34 (15%) | 11/37 (30%) | 13/37(35%) | 11/33 (33%) | 9/27 (33%) | $P < 0,05$ dla 3 największych dawek |
| Pęcherz moczowy (raki komórek przejściowych, brodawczaki), samce | 0/38 | 2/34 | 2/36 | 5/35 | 7/31 | $P \leq 0,02$ dla 2 największych dawek |
| Pęcherz moczowy (raki komórek przejściowych, brodawczaki), samice | 0/34 | 0/37 | 0/37 | 0/33 | 1/27 | |
| Tkanka limfatyczna i krwiotwórcza (ostre białaczki), samce i samice łącznie | 0/72 | 3/71 | 6/73 | 6/68 | 4/58 | $P \leq 0,04$ dla 3 największych dawek dla samców i samic łącznie |
| Układ nerwowy (neurogeniczne mięsaki z nerwów obwodowych, samce i samice łącznie) | 1/72 | 7/71 | 5/73 | 6/68 | 1/58 | $P \leq 0,05$ dla dawek 0,31 i 1,25 mg/kg |

W wyniku podskórnych iniekcji cyklofosfamidu u myszy obserwowano tworzenie się różnego rodzaju nowotworów, z rakiem sutka i białaczką włącznie (Schmähl, Osswald 1970; Walker, Bole 1971; 1973; Walker, Anver 1979; 1983; Petru i wsp. 1989).

Dożylnie podawanie cyklofosfamidu szczurom powodowało powstawanie łagodnych oraz złośliwych nowotworów (Schmähl 1967; 1974; Schmähl, Osswald 1970). Podawanie tego związku dootrzewnowo zwiększało zapadalność myszy na: gruczolaki i gruczolakoraki płuca, brodawczaki pęcherza moczowego i białaczkę (Shimkin i wsp. 1966; Weisburger i wsp. 1975; Mahgoub i wsp. 1999), a szczurów na gruczolaki i raki sutka (Weisburger i wsp. 1975).

Jakościowa ocena działania rakotwórczego

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) uznała, że są wystarczające dowody na działanie rakotwórcze cyklofosfamidu na ludzi. Cyklofosfamid wywołuje raka pęcherza i ostrą białaczkę szpikową. Uznano również, że są wystarczające dowody działania rakotwórczego tego związku na zwierzęta doświadczalne i sklasyfikowano cyklofosfamid jako związek rakotwórczy dla ludzi (grupa 1.), (IARC 2011).

Cyklofosfamid znajduje się również w wykazie substancji rakotwórczych dla ludzi i toksycznie działających na rozrodczość opublikowanym przez EPA w Kalifornii (State... 1993).

W Unii Europejskiej, zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającym i uchylającym dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającym rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz.Urz. UE L 353 z dnia 31.12.2008 r.) cyklofosfamid został zaklasyfikowany jako substancja rakotwórcza kategorii 1.A i mutagenna kategorii 2.B.

W Polsce cyklofosfamid był wymieniony jako czynnik rakotwórczy dla ludzi w wykazie do rozporządzenia ministra zdrowia i opieki społecznej z dnia 11.09.1996 r. w sprawie czynników rakotwórczych w środowisku pracy oraz nadzoru nad stanem zdrowia pracowników, lecz nie uwzględniono go w rozporządzeniu z dnia 1.12.2004 r. W obowiązującym rozporządzeniu ministra zdrowia z dnia 24.07. 2012 r. do wykazu substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagenym włączono, m.in. substancje chemiczne zaklasyfikowane jako rakotwórcze lub mutagenne kategorii 1.A lub 1.B, zgodnie ze wspomnianym wcześniej rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, czyli cyklofosfamid został zaklasyfikowany jako substancja rakotwórcza kategorii 1.

W NIOSH przyjęto uznawać za niebezpieczne te leki, które wykazują jedną lub więcej następujących właściwości dla ludzi i zwierząt:

- rakotwórczość
- teratogenność lub toksyczność rozwojową
- działanie szkodliwe na rozrodczość
- toksyczność narządową w małych dawkach
- genotoksyczność

– lek jest lekiem nowym, którego profil toksyczności jest podobny do istniejącego leku, uznanego za lek niebezpieczny według powyższych kryteriów.

W NIOSH umieszczono cyklofosfamid na przykładowej liście leków, które powinny być traktowane jako leki niebezpieczne (NIOSH 2012).

Ilościowa ocena działania rakotwórczego

Ze względu na brak danych o narażeniu zawodowym na cyklofosfamid umożliwiającym bezpośrednio ilościową ocenę ryzyka, podstawą obliczeń mierników ryzyka wywołanego przez ten związek są najczęściej wyniki badań doświadczalnych, przeprowadzonych na 100-dniowych szczurach, którym związek ten podawano w wodzie do picia przez cały okres życia (*Schmähl, Habs 1979*). Wyniki te przedstawiono w tabeli 9. Spośród licznych, omówionych wcześniej wyników badań rakotwórczości na zwierzętach, tylko te wyniki spełniają warunki wymagane do ilościowej oceny (odpowiednio długi czas trwania doświadczeń oraz minimum dwie dawki substancji).

Sessink i wsp. wyliczyli, na podstawie skumulowanych dawek cyklofosfamidu i związanej z nimi częstości występowania nowotworów w wymienionym wcześniej doświadczeniu, że ryzyko raka pęcherza u ludzi, związane z dawką wielkości 1 mg/kg mc., wynosi: $293 \cdot 10^{-6}$, a ryzyko białaczki – $233 \cdot 10^{-6}$ (*Sessink i wsp. 1995*). Dawki wchłoniętego cyklofosfamidu szacowano na podstawie ilości tego związku w moczu (tab. 3.) przy założeniu, że stanowi ona 5% wchłoniętej dawki. Po przeliczeniu na skumulowaną dawkę cyklofosfamidu w ciągu 40 lat narażenia zawodowego przez 200 dni w roku dla pracownika o masie ciała 70 kg ($28,8 \div 140$ mg) wyliczono ryzyko nowotworu pęcherza u mężczyzn jako $120 \div 600$ dodatkowych przypadków na milion i $95 \div$

475 białaczek u obu płci na milion.

Agencja Ochrony Środowiska stanu Kalifornia, na podstawie wyników badań *Schmähla* i *Habsa* (*Schmähla, Habs* 1979), wyznaczyła także współczynnik nachylenia krzywej zależności dawka-odpowiedź dla działania rakotwórczego cyklofosfamidu (nowotwory pęcherza u samców) o wartości 0,57 (mg/kg/dzień)⁻¹ i jako poziom nieistotnego ryzyka (NSRL) przyjęła 1 µg cyklofosfamidu/dzień. Poziomowi temu odpowiada jeden dodatkowy nowotwór pęcherza na 10⁵ w ciągu całego okresu życia (CEPA 1992).

Działanie embriotoksyczne, fetotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Narażenie ludzi

Narażenie na cyklofosfamid w pierwszym trymestrze ciąży może powodować takie liczne wady rozwojowe płodu, jak: uszkodzenia kośćca i podniebienia, zniekształcenia kończyn (*Greenberg, Tanaka* 1964; *Toledo* i wsp. 1971; *Kirshon* i wsp. 1988; *Zemlickis* i wsp. 1993; *Enns* i wsp. 1999; *Paladini* i wsp. 2004; *Paskulin* i wsp. 2005; *Lazalde* i wsp. 2012; *Leyder* i wsp. 2011). Znane są przypadki poronień w pierwszym trymestrze ciąży po podaniu cyklofosfamidu (*Clowse* i wsp. 2005) lub przedwczesnych porodów w 32. tygodniu ciąży (*Fernandez* i wsp. 2006). Wady kończyn stwierdzono u dwojga dzieci narażonych na cyklofosfamid *in utero*. Jedna z matek otrzymywała dawkę 100 mg/dzień cyklofosfamidu w ciągu całego przebiegu ciąży, a jej dziecko urodziło się bez dużych palców u stopy i odpowiadających im kości palczkowych w śródstopiu oraz z niedorozwojem palczków lewego piątego palca u stopy i z rozszczepem podniebienia (*Greenberg, Tanaka* 1964). Drugim przypadkiem był martwy płód, urodzony bez palców u nóg. Matce podawano dawki 560 mg/dzień cyklofosfamidu przez 4 dni, a następnie dawki 100 i 150 mg/dzień przez 2 miesiące. Pacjentka

była poddawana również wielokrotnie prześwietleniom rentgenowskim między 2. i 5. miesiącem ciąży (*Toledo* i wsp. 1971).

Znane są jednak również przypadki ciąży o prawidłowym przebiegu związane z przyjmowaniem cyklofosfamidu w pierwszym trymestrze ciąży (*Coates* 1970; *Marazzini, Macchi* 1966; *Blatt* i wsp. 1980). Szacuje się, że ryzyko wad rozwojowych płodu związane z przyjmowaniem cyklofosfamidu w czasie ciąży wynosi 1: 3 (*Schardein* 2000). Wydaje się jednak, że ta liczba jest znacznie przeszacowana, zwłaszcza w świetle analizy danych przeprowadzonej przez National Toxicology Program (NTP 2013).

W NTP zebrano dane dotyczące 416 pacjentek z nowotworem, łącznie 419 poczęć (w tym 3 ciąży bliźniacze), które podczas ciąży leczono cyklofosfamidem, zidentyfikowanych na podstawie opisów: 90 przypadków, 17 serii przypadków (100 przypadków), 4 retrospektywnych serii przypadków (33 przypadki), 10 badań retrospektywnych (74 przypadki), 2 retrospektywnych badań kohortowych (8 przypadków) i jednego badania rejestrów (111 przypadków), (NTP 2013). Raka piersi zdiagnozowano w 270 przypadkach, w 14 – raka jajników, w 1 – kosmówczaka macicy, w 3 – przypadki mięsaka Ewinga, w 3 – przypadki mięsaka prążkowanokomórkowego, w 2 – przypadki mięsaka tkanki miękkiej. Cyklofosfamid był również stosowany w terapii nowotworów układu krwiotwórczego (np. ostrych białaczkach limfatycznych, białaczkach szpikowych, ziarnicach złośliwych, chłoniakach niezziarnicznych, chłoniakach Burkitta).

Narażenie na cyklofosfamid udokumentowano w 416 ciążach (w tym 3 ciążach bliźniaczych, łączna liczba poczęć wynosiła 419). Udział poważnych wad rozwojowych płodów, bez względu na rodzaj wady i etap ciąży, wynosił łącznie 3% (13/405 obliczony na podstawie 400 urodzeń żywych oraz badań płodów z 3 porodów martwych i 3 aborcji). W USA częstość poważnych wad rozwojowych płodów w

populacji ogólnej wynosiła 3% (Correa i wsp. 2007). Spośród 47 ciąż (48 poczęć) z narażeniem na cyklofosfamid w 1. trymestrze ciąży poważne uszkodzenia stwierdzono u: 4 urodzonych żywych niemowląt, 2 płodów z aborcji i 1 martwego porodu. Zniekształcenia kośćca wystąpiły w przypadku 6 ciąż z narażeniem w 1. trymestrze: brak lub niedorozwój kości stóp lub dłoni (Greenberg, Tanaka 1964; Toledo i wsp. 1971; Reynoso i wsp. 1987; Paskulin i wsp. 2005; Leyder i wsp. 2010), zrośnięte palce w dłoni (Paskulin i wsp. 2005, Leyder i wsp. 2010), zniekształcenia czaszki (Greenberg, Tanaka 1964; Paskulin i wsp. 2005) i wielopalczastość (Mulvihill i wsp. 1987). Podobne wady kośćca i inne uszkodzenia, występujące u potomstwa kobiet, którym podawano cyklofosfamid w 1. trymestrze ciąży, w terapii chorób autoimmunologicznych stały się podstawą hipotezy o cyklofosfamidowym syndromie wad rozwojowych w następstwie narażenia w czasie organogenezy (Vaux i wsp. 2003). Podobne wady kośćca obserwowano ponadto w badaniach toksyczności rozwojowej u zwierząt narażanych na cyklofosfamid w okresie organogenezy, co uprawdopodobniało tę hipotezę.

Udział ewidentnych poważnych wad rozwojowych w następstwie narażenia na cyklofosfamid w 1. trymestrze ciąży wynosił 18% (7/39 poczęć), (NTP 2013). Terapia za pomocą cyklofosfamidu przeprowadzona w 2. i 3. trymestrze ciąży wiąże się raczej z niedokrwistością aplastyczną (Pizzuto i wsp. 1980) i upośledzeniem rozwoju płodu (Nicholson 1968).

Dane dotyczące ewentualnych skutków narażenia na cyklofosfamid są trudne do interpretacji, gdyż ciężarne kobiety poddawane terapii cierpią na poważne choroby, a terapia obejmuje, oprócz cyklofosfamidu, najczęściej nasświetlania, a także wiele innych środków cytotatycznych.

W latach 80. potwierdzono u przygotowu-

jących i podających cyklofosfamid pielęgniarek w wieku rozrodczym, wchłanianie mierzalnych ilości tego związku zarówno w postaci aerozolu, jak i przez skórę (Hirst i wsp. 1984). Stwierdzono także, że to narażenie jest związane ze zwiększonym ryzykiem poronienia (Selevan i wsp. 1985). Proponowane w USA zalecenia odnośnie do bezpiecznego postępowania przy pracy z lekami używanymi w chemoterapii dla ciężarnych pielęgniarek są takie same, jak i dla kobiet, które nie są w ciąży (Jefrey 1987).

Narażenie zwierząt doświadczalnych

Cyklofosfamid jest teratogeny dla wielu gatunków zwierząt, m.in. dla: szczurów, myszy, królików i naczelnych. Jest odpowiedzialny za zniekształcenia i deformacje w układzie kostnym i tkankach miękkich oraz zwiększoną liczbę resorpcji płodów, a rodzaj i częstość deformacji są ściśle zależne od czasu i wielkości dawki (von Kreybig 1965; Gibson, Becker 1968; Singh 1971; Kar i wsp. 1974; Clavert i wsp. 1978; Nawar i wsp. 1979; Ujhazy i wsp. 1979).

Szczegółowe badania działania teratogenego pod kątem anomalii w budowie oka (Singh, Sanyal 1976) i wad w układzie kostnym (Schmitz i wsp. 1972; Potturi i wsp. 1975; Singh, Singh 1975; Pabst, Wendler 1976) u płodów przeprowadzono na szczurach. Na podstawie wyników tych badań wykazano, że różnego rodzaju działania fetotoksyczne i embriotoksyczne mogą być indukowane i we wczesnych okresach ciąży i w późnych (Stekar 1973; Schmidt i wsp. 1977; Spielmann i wsp. 1977; Spielmann, Eibs 1978). Podawane myszom Swiss Webster jednorazowo dootrzewnowo dawki 5 lub 10 mg/kg mc. cyklofosfamidu od 9. do 14. dnia ciąży spowodowały wzrost liczby resorpcji i zahamowanie wzrostu płodów przy braku znacznych zmian w szkie-

letach. Natomiast po dawce 20 mg/kg mc. cyklofosfamidu u zwierząt stwierdzano zwiększoną liczbę resorpcji i szereg znacznych zmian w szkieletach płodów: rozszczep podniebienia, eksencefalię (wrodzony brak kości czaszki), wrodzony brak palców, wielopalczałość, zrośnięte palce, krótkie palce, brak palców, niewykształcone kości, krzywiznę kości długich, brak żeber oraz zniekształcenia w tkankach miękkich – niedomykanie oczu, afakie, mikrofalię, wodonercze i wodogłowie (Gibson, Becker 1968).

U szczurów szczepu Wistar, którym podawano jednorazowo dootrzewnowo dawki od 7 do 10 mg/kg mc. cyklofosfamidu między 11. a 12. dniem ciąży, obserwowano: zniekształcenia szkieletu u płodów, wrodzony brak palca lub palców, wielopalczałość, zrośnięte palce, krótkie palce łap, brak ogona lub jego zniekształcenie, przepuklinę mózgową i częściowy brak czaszki (Chaube i wsp. 1968).

U królików po pojedynczej dawce 30 mg/kg mc. cyklofosfamidu dożylnie stwierdzono działanie teratogenne i embriotoksyczne związku: zniekształcenia zamknięcia nerwowej cewki brzusznej u 10% płodów 7. dnia ciąży, rozszczep podniebienia i zniekształcenia szczęk i warg u 30% płodów 11. dnia ciąży, zmniejszenie liczby palców (oligodaktylia) 12. dnia ciąży oraz krótkie palce 13. dnia ciąży (Fritz, Hess 1971).

U naczelnych wykazano działanie zarówno embriotoksyczne, jak i teratogenne cyklofosfamidu. Podawanie domięśniowo małpom Rexus między 25. a 43. dniem ciąży dawek $2,5 \div 20$ mg/kg/m.c. cyklofosfamidu w 27. i 29. dniu ciąży wywoływało rozszczep warg i/lub podniebienia i wytrzeszcz oczu u 6 na 10 potomstwa. Ponadto, u jednego noworodka wystąpił zgięty ogon, u innego częściowo zarośnięty oczodół, zniekształcenia układu kostnego, w tym: zrośnięte żebra, brak kości nadgarstka, brak jednego lub więcej palców lewej ręki. Dawka 10 mg/kg mc. cyklofosfamidu wywoływała w okresie od 32. do 40.

dnia ciąży twarzoczaszkową dysmorfie (niedorozwój kości śródczaszki, silnie wygięte podniebienie) i/lub przepuklinę mózgowoponową (8/8 potomstwa). Embriotokyczność występowała po dużych dawkach cyklofosfamidu (20 mg/kg mc.) lub po długim okresie narażenia (10 dni ciąży), (McClure i wsp. 1979).

Przechodzenie ^{14}C -cyklofosfamidu przez łożysko stwierdzono u myszy (Gibson, Becker 1971). Murthy i wsp. wykazali pozytywną korelację między alkilacją DNA u embrionów a wrodzonymi uszkodzeniami płodów u myszy (Murthy i wsp. 1973). Köhler i Merker stwierdzili podobną korelację dla zależnej od DNA RNA polimerazy u szczurzych embrionów (Köhler, Merker 1973).

Przechodzenie cyklofosfamidu przez łożysko u ciężarnych kobiet po podaniu go dożylnie w dawce 400 mg/cm^2 stwierdzili d'Incalci i wsp. (d'Incalci i wsp. 1982).

Przechodzenie cyklofosfamidu przez łożysko u pawianów badali van Calsteren i wsp. (van Calsteren i wsp. 2010). Stężenia cyklofosfamidu w plazmie u matki i płodu były porównywalne po upływie 2 h od podania tego związku dożylnie trzem ciężarnym samicom. Po upływie 24 h od podania cyklofosfamidu jego metabolity nie były wykrywane w osoczu matki i płodu (van Calsteren i wsp. 2010).

Wpływ na rozrodczość

Płodność

Cyklofosfamid może powodować bezpłodność u obu płci. Powoduje uszkodzenia męskich komórek rozrodczych: przed okresem dojrzewania, w okresie dojrzewania i u osobników dorosłych (Penso i wsp. 1974; Gilmore i wsp. 1979), a także przedwczesne zaburzenia jajczkowania u kobiet (Uldall i wsp. 1972; Koyama i wsp. 1977).

Cyklofosfamid, podobnie jak inne, stosowane w chemioterapii leki, może indukować nieodwracalny brak miesiączki (Ataya, Moghissi 1989), zwłaszcza u kobiet w wieku bli-

skim menopauzy (Brinckner i wsp. 1989). Pulsacyjne leczenie nefropatii toczniowej małymi dawkami cyklofosfamidu, w krótkich odstępach czasu, wywoływało jedynie nieznaczne zaburzenia cyklu menstruacyjnego i płodności u kobiet w wieku poniżej 40 lat (Langevitz i wsp. 1992). U trzech, spośród 18 kobiet w wieku przedmenopauzalnym, którym podawano dożylnie cyklofosfamid (średnia dawka skumulowana 6,973 mg) przeciw toczniowi rumieniowatemu układowemu, wystąpiło zahamowanie jajeczkowania, a dwie z nich urodziły zdrowe potomstwo po przerwaniu leczenia (da Cunha i wsp. 2008). Znane są liczne doniesienia o skutecznym zajściu w ciążę przez kobiety, które poddawano uprzednio chemioterapii z zastosowaniem m.in. cyklofosfamidu (Yoshinaka i wsp. 2000; Kanazawa i wsp. 2000; Sharon i wsp. 2001; da Cunha i wsp. 2008).

U ludzi terapia z użyciem cyklofosfamidu może indukować oligospermię i azoospermię (Sieniawski i wsp. 2008). W niektórych przypadkach zmniejszenie płodności jest odwracalne, ale powrót do normalnych parametrów nasienia może wymagać dłuższego czasu, obejmującego dekady (Watson i wsp. 1985). Największe ryzyko bezpłodności występuje po dawkach cyklofosfamidu ponad 7,5 g/m² (Meistrich i wsp. 1992; Kenney i wsp. 2001). U dorosłych mężczyzn, którzy w dzieciństwie przeszli terapię przeciw białaczce za pomocą: cyklofosfamidu oraz wielu innych cytostatyków, a także naświetlań, nie stwierdzono szkodliwych skutków na wyniki analizy nasienia, jeżeli dawka nie przekraczała 10 g/m² (Jahnukainen i wsp. 2011). W grupie osób, które zostały poddane terapii, po dawce cyklofosfamidu ponad 20 mg/cm² poziom hormonu FSH był zwiększony, natomiast poziom wolnego testosteronu zmniejszony w porównaniu z grupą otrzymującą dawkę poniżej 10 g/cm². Mężczyźni narażeni na dawkę do 10 g/cm² cyklofosfamidu mieli mniej potomstwa niż dobrana wiekowo grupa kontrolna. Pacjentów, którzy

przeżyli chorobę nowotworową, nie pytano, czy planowali potomstwo, w związku z tym, istotność tej informacji może budzić zastrzeżenia. Mężczyźni narażeni na dawkę ponad 20 g/cm² cyklofosfamidu mieli w poważnym stopniu oligo/azoospermię i nie mieli potomstwa. W celu ograniczenia zapadalności na przewlekłą oligospermię, osobom leczonym cyklofosfamidem podaje się testosteron (Masala i wsp. 1997). W grupie 59 mężczyzn, którzy byli leczeni cyklofosfamidem w dzieciństwie, poziom FSH był obniżony o około 50% po 4 do 20 latach (Ridola i wsp. 2009). Na podstawie wyników tych badań, a także innych badań wynika, że odbiegający od normy poziom FSH i upośledzenie płodności rosną z wielkością skumulowanej dawki cyklofosfamidu (van Casteren i wsp. 2010; Green i wsp. 2010; Ridola i wsp. 2009).

U szczura cyklofosfamid może przenikać z osocza krwi do nasienia i przechodzić na samicę podczas stosunku (Hales i wsp. 1986). Przedkopulacyjne podanie samcom cyklofosfamidu zmniejszało implantację i przeżywalność płodów u nienarażanych samic (Trasler i wsp. 1985; Brinkworth, Nieschlag 2000). Narażenie samców na cyklofosfamid jest związane również ze zmianą budowy chromatyny w nasieniu (Codrington i wsp. 2007).

Laktacja

Cyklofosfamid podawany jako lek przechodzi do mleka kobiet i może spowodować u dziecka upośledzenie czynności szpiku kostnego (Wiernik, Duncan 1971; Duncan i wsp. 1973). Obecność cyklofosfamidu w mleku matki potwierdzono po: 1, 3, 5 i 6 h po podaniu dożylnie 500 mg tego leku kobiecie cierpiącej na złośliwą (chłoniak Hodgkina), która była 8 miesięcy po porodzie (Wiernik, Duncan 1971). Upośledzenie czynności szpiku obserwowano u dwóch niemowląt, których matki kontynuowały karmienie piersią podczas kuracji cyklofosfamidem. Liczba leukocytów i pły-

tek krwi były zmniejszone, ale było to odwracalne (Durodola 1979). Nabyta od matki neuropenia wystąpiła u dziecka karmionego piersią przez matkę, której w ramach terapii przewlekłej białaczki limfatycznej podawano tygodniowo 800 mg cyklofosfamidu i 2 mg vincristinu (Amato, Niblett 1977).

American Academy of Pediatrics (2001) zaklasyfikowała cyklofosfamid jako lek cytotoksyczny, który może interferować z metabolizmem komórkowym niemowląt.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Cyklofosfamid u większości gatunków zwierząt jest szybko wchłaniany, metabolizowany i wydalany. Po wstrzyknięciu szczerom dootrzewnowo znaczonego izotopem cyklofosfamidu największą aktywność w tkankach obserwowano w ciągu 20 ÷ 30 min. Związek był szybko metabolizowany i do 75% izotopu było wydalane w ciągu 5 ÷ 8 h (Mosienko, Pivnyuk 1968; Chandramouli, Sivaramakrishnan 1969; Talha i wsp. 1980).

Rozmieszczenie i metabolizm cyklofosfamidu w organizmie ludzi i zwierząt są podobne (Brock i wsp. 1971; Fenselau 1976) z utworzeniem aldofosfamidu (Fenselau i wsp. 1977) i 4-hydroksycyklofosfamidu jako prekursorów reaktywnego metabolitu iperytu fosforoamidowego (Fenselau i wsp. 1975).

Po podaniu dożylnym związek jest szybko wchłaniany z krwi. U pacjentów otrzymujących dziennie znaczone na pierścieniu izotop cyklofosfamidu w dawce 6,7 ÷ 80 mg/kg mc. radioaktywność ulegała szybkiemu rozmieszczeniu we wszystkich tkankach, a jego półokres w osoczu wynosił 6,5 h. Nie stwierdzano radioaktywności w wydychanym powietrzu ani w kale (Bagley i wsp. 1973). Z moczem było wydalane 50 ÷ 68% radioaktywności, głównie w postaci karboksyfosfamidu i iperytu fosforoamidowego (Bagley i wsp. 1973; Wagner i wsp. 1980), a z białkami osocza było związane 56% reaktywnych metabolitów (Bagley i wsp. 1973).

Farmakokinetyczne parametry cyklofosfamidu i jego metabolitów są niezależne od wielkości dawki i nie zmieniają się po 22-dniowej terapii (Mouridsen i wsp. 1976), aczkolwiek stwierdzono skrócenie półokresu wydalania po 6 miesiącach ciągłej terapii (D'Incalci i wsp. 1979) i wydłużenie okresu wydalania przy jednoczesnej terapii za pomocą chloramfenikolu (Faber i wsp. 1975).

Przy podawaniu dożylnym izotopu ¹⁴C-cyklofosfamidu (znaczonego atom węgla w pierścieniu) szybkość wydalania jego metabolitów wykazywała dużą zmienność indywidualną (Mouridsen i wsp. 1974). Po dawce cyklofosfamidu 0,02 mg/kg mc. półokres cyklofosfamidu w surowicy wynosił średnio 255 min (234 ÷ 461 min), natomiast po dawce 2 mg/kg mc. – 295 min (250 ÷ 496 min). W przypadku dawki 0,02 mg/kg mc. w ciągu 24 h z moczem było wydalane w postaci niezmienionej średnio 9,5% (6,3 ÷ 13,4%) wprowadzonego cyklofosfamidu, a po dawce 2 mg/kg mc. średnio 9,7% (7,0 ÷ 11,4%), (Mouridsen i wsp. 1976).

Na podstawie badań 16 pacjentek z rakiem piersi, którym pooperacyjnie podawano dawki 800 ÷ 2240 mg cyklofosfamidu, stwierdzono, że średni klirens nerkowy wynosił 8,6 ml/min (6,5 ÷ 10,7) i nie zależał od stężenia tego związku w plazmie (Hedmer i wsp. 2008). Obliczony w tej pracy półokres eliminacji cyklofosfamidu – 5 h w ciągu pierwszych 60 h od podania leku był zgodny z danymi uzyskanymi przez Busse i wsp. (Busse i wsp. 1997).

Metabolizm i wydalanie

Metabolizm cyklofosfamidu był badany u kilku gatunków zwierząt: myszy, szczurów, chomików, królików, psów, owiec oraz małp (*Torkelson i wsp. 1974; Schaurloffel i wsp. 1975; Voelcker i wsp. 1976*).

Sam związek nie jest cytotoksyczny, gdyż wymaga aktywacji metabolicznej zanim może działać jako czynnik alkilujący. Aktywacja ma miejsce głównie w wątrobie, chociaż może zachodzić także w innych tkankach (IARC 1981). Cyklofosfamid jest racematem – mieszaniną racemiczną, która wykazuje często odmienne właściwości od poszczególnych enancjomerów. Stereoselektywny metabolizm jego enancjomerów potwierdzono u: myszy, szczurów oraz królików (*Cox i wsp. 1978*).

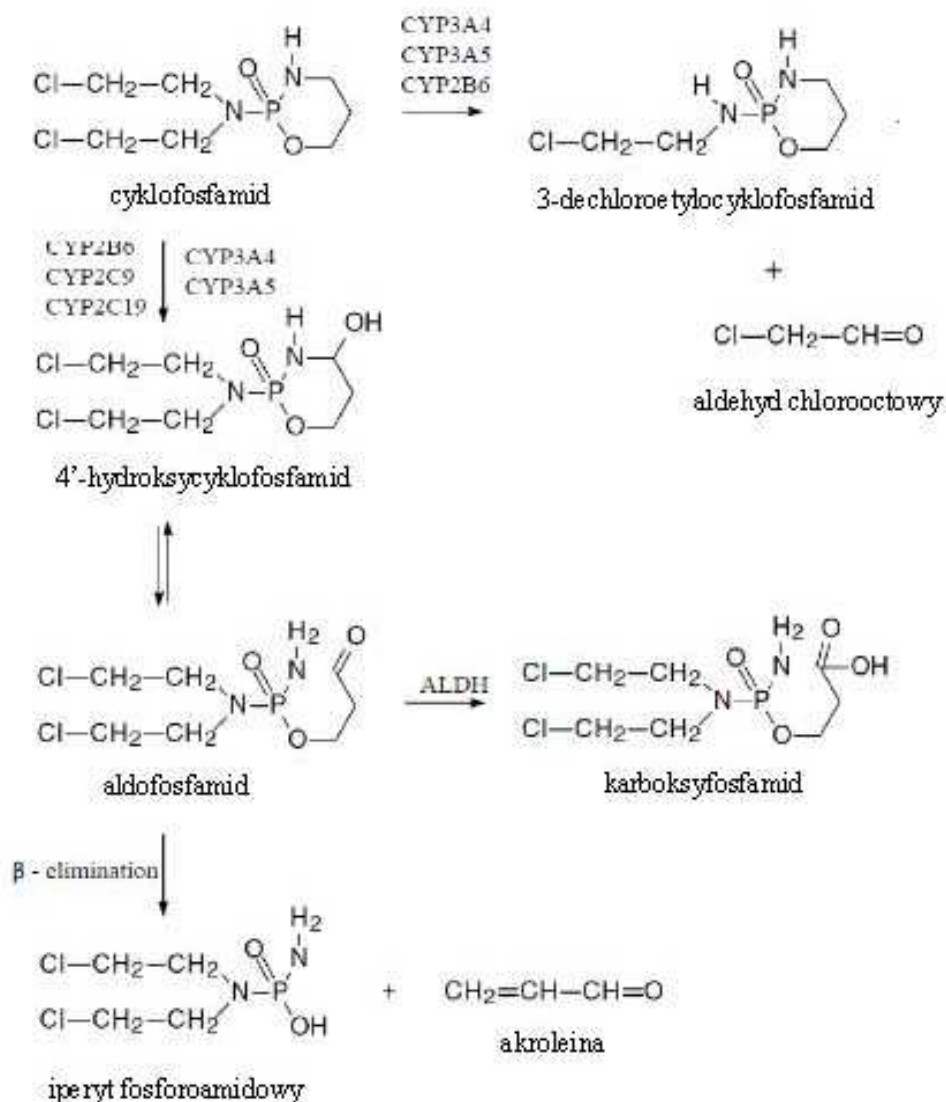
Pochodna 4-hydroksy, która jest metabolitem pierwotnym cyklofosfamidu, pozostaje w równowadze z tautomerem o otwartym pierścieniu – aldofosfamidem. Oba metabolity mogą podlegać u ssaków dalszej przemianie pod wpływem działania enzymów, w przypadku 4-hydroksyfosfamidu do 4-ketocyklofosfamidu, a w przypadku aldofosfamidu do pochodnej kwasu propionowego. Oba związki wykazują słabą aktywność alkilującą, są stosunkowo nietoksyczne i u szeregu gatunków zwierząt stanowią główne metabolity cyklofosfamidu wydalane z moczem. Jednakże pod nieobecność enzymów detoksykacyjnych aldo-

fosfamid może rozkładać się do iperytu fosforamidowego i akroleiny (*Colvin i wsp. 1973; Connors i wsp. 1974; Struck 1974; Struck, Laster Jr. 1975; Alarcon 1976; Colvin 1978; Do-meyer, Sladek 1980*).

Kompleksowe wyniki badania analogów cyklofosfamidu, spośród których niektóre uwalniają akroleinę, lecz nie uwalniają iperytu fosforamidowego, dostarczyły mocnych dowodów na to, że metabolitem cyklofosfamidu odpowiedzialnym za jego działanie przeciwnowotworowe jest iperyt fosforamidowy (*Connors 1978*). Iperyty fosforamidowy może ulegać defosforoamidacji z utworzeniem 1,1'-imino-bis(2-chloroetanu), (*nor-nitrogen mustard*), który również ma właściwości alkilujące. Metabolity cyklofosfamidu mogą oddziaływać na DNA i białka z utworzeniem adduktów. Schemat metabolizmu cyklofosfamidu przedstawiono na rysunku 2.

Przyczyną ubocznego działania toksycznego cyklofosfamidu są prawdopodobnie iperyt fosforoamidowy i akroleina, chociaż sugerowano również, że obserwowane niekiedy uszkodzenia nerek można przypisać metabolitowi o nazwie 1,1'-iminobis(2-chloroetan), (*nor-nitrogen mustard*), (*Colvin 1978*).

Poboczny szlak metabolizmu cyklofosfamidu polega na dechloroetylacji i prowadzi do 2-dechloroethylcyklofosfamidu (2-DCECP) i innego czynnika alkilującego – aldehydu chloroacetowego (*Balu i wsp. 2002*).



Rys. 2. Schemat metabolizmu cyklofosfamidu (de Junge i wsp. 2006)

W badaniach, których celem było imitowanie narażenia personelu medycznego drogą inhalacyjną i dermalną na cyklofosfamid, podawano szczurom na skórę i dotchawiczo pojedynczą dawkę 1 mg/kg mc. związku. Podczas obu dróg podania 5% podanej dawki było wydalane w postaci niezmięnionej z moczem w ciągu 24 h. Po podawanych na skórę dawkach 0,1 lub 0,01 mg/kg mc. procent wydalanego niezmięzonego cyklofosfamidu wynosił odpowiednio: $8,3\% \pm 2,1$ i $5,1\% \pm 2,9$ (Sessink i wsp. 1991).

Roztwór cyklofosfamidu zawierający 1 mg związku nałożono na skórę 5 ochotników w okolicach dołka łokciowego. W zebranych w ciągu 24 h moczu zidentyfikowano zmienne ilości niezmetabolizowanego cyklofosfamidu (średnio około 1% dawki). W większości przypadków związek ten występował w próbkach moczu pobranych ponad 6 h po aplikacji (Hirst i wsp. 1984). Mniejszy procent niezmięzonego cyklofosfamidu w moczu w porównaniu z wynikami uzyskanymi dla szczurów przez

Sessinka i wsp. może wynikać z różnic międzygatunkowych i z warunków prowadzenia doświadczenia (*Sessinka* i wsp. 1991). Wydaje się, że warunki narażenia ochotników były bardziej zbliżone do rzeczywistych warunków narażenia zawodowego personelu medycznego na cyklofosfamid, ponieważ szczurom nakładano związek na skórę w roztworze gliceryny, a ochotnikom w postaci roztworu wodnego.

Po jednorazowym dożylnym podaniu pacjentom cyklofosfamidu zostało wydalone z

moczem po upływie jednego dnia średnio: 16% niezmetabolizowanego związku, 10% karboksyfosfamidu (CXCP) i 3% dechloroetylocyklofosfamidu (DCCP). Dwa dni od podania cyklofosfamidu 22% wydalone z moczem w postaci CXSP jako niezmienny CP, średnio 15%, a w postaci DCCP – 5% wprowadzonej dawki. Produkty rozpadu iperytu fosfoamidowego stanowiły, odpowiednio, 0,3 i 0,6% (*Joqueviel* i wsp. 1998).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Większość dostępnych danych dotyczących mechanizmu toksyczności cyklofosfamidu dotyczy jego działania kancerogenego. Wskazują one, że mechanizm tego działania jest genotoksyczny (*McCarroll* i wsp. 2008).

Wykazano, że reaktywne metabolity cyklofosfamidu powodują tworzenie krzyżowych wiązań w kwasach nukleinowych, zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* (*Wheeler* 1962; *Roberts* i wsp. 1968). Metabolitem, któremu powszechnie jest przypisywane antynowotworowe działanie cyklofosfamidu jest iperyt fosforoamidowy (*Povirk, Shuker* 1994). Metabolit ten jest uważany również za najbardziej genotoksyczny, natomiast udział silnie toksycznej akroleiny w genotoksyczności cyklofosfamidu nie jest jasny. Wiadomo, że podawanie onkologicznym pacjentom cyklofosfamidu wywołuje stany zapalne pęcherza moczowego (krwotoczne zapalenie), czego nie obserwuje się przy terapii za pomocą innych czynników alkilujących (*Forni* i wsp. 1964; *Liedberg* i wsp. 1970). Również u szczurów podawanie cyklofosfamidu skutkuje zapaleniem pęcherza (*Crocitto* i wsp. 1996), natomiast u myszy po podaniu tego związku obserwowano mutagenność moczu (*Te* i wsp. 1997). Posiadający alkilujące właściwości iperyt fosforoamidowy, metabolit cyklofosfamidu,

ulega dalszej metabolizacji, lecz nie wykazano, by był on cytotoksyczny, a jego oddziaływanie na pęcherz moczowy jest minimalne. Natomiast dietylocyklofosfamid, produkt pośredni na drodze przemiany w akroleinę, podany dootrzewnowo szczurom powodował zapalenie pęcherza o dużym nasileniu u samców i mniejszym u samic (*Cox* 1979).

Akroleina jest jedynym metabolitem cyklofosfamidu zarówno reaktywnym, jak i cytotoksycznym (IARC 1995). Podawana dootrzewnowo szczurom powoduje rozrost komórek nabłonka dróg moczowych (*Sakata* i wsp. 1989). Skojarzenie tych dwóch faktów prowadzi do wniosku, że to właśnie akroleina jest najbardziej prawdopodobnym czynnikiem wywołującym indukowane cyklofosfamidem stany zapalne. Zapalenie pęcherza jest stanem kojarzonym z tworzeniem się nowotworów raków kolczystokomórkowych i raków nabłonka pęcherza (*Michaud* 2007). Dootrzewnowe podanie akroleiny jako takiej nie indukuje jednakże nowotworów, a jedynie rozrost komórek pęcherza, a jej podawanie drogą pokarmową szczurom i myszom nie skutkowało działaniem rakotwórczym (*Cohen* i wsp. 1992; IARC 1995).

Wydaje się zatem całkiem zasadne stwierdzenie, że spowodowany działaniem akroleiny stan

zapałny pęcherza jest promotorem kancerogenezy pęcherza, inicjowanej przez inne metabolity cyklofosfamidu. Ochronne działanie alkilotransferazy O⁶-alkiloguanina-DNA (AGT) przed działaniem mutagennym (mutacje Hprt) i cytotoksycznym cyklofosfamidu na komórki jajnika chomika chińskiego sugeruje pewien udział w tym procesie uszkodzenia DNA, wywołwanego przez akroleinę (Cai i wsp. 1999; Friedman i wsp. 1999).

Na podstawie wyników badań nad wymianami chromatyd siostrzanych indukowanymi przez akroleinę i iperyt fosforoamidowy w

ludzkich limfocytach, można twierdzić, że ten ostatni jest silniejszym czynnikiem genotoksycznym (Wilmer i wsp. 1990). Na podstawie wyników badań mutacji TP53 kojarzonych z działaniem cyklofosfamidu i rakiem pęcherza u ludzi można stwierdzić, że wykryte mutacje są charakterystyczne dla uszkodzeń DNA powodowanych raczej przez iperyt fosforoamidowy niż przez akroleinę (Khan i wsp. 1998).

Podsumowując, można przyjąć, że cyklofosfamid po bioaktywacji do alkilujących metabolitów jest kancerogeny w wyniku działania mechanizmu genotoksycznego (IARC 2011).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W badaniach ankietowych, którym poddano personel medyczny mający do czynienia z 18 lekami przeciwnowotworowymi, w tym z cyklofosfamidem, oceniano subiektywne ostre objawy ze strony: układu pokarmowego, nerwowego, sercowo-naczyniowego oddechowego, a także objawy ogólnoukładowe i alergiczne (Valanis i wsp. 1993). Łączna liczba analizowanych ankiet wynosiła 838, pochodziły one z 57 amerykańskich instytucji służby zdrowia uczestniczących w projekcie *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project* (NSABP).

Ankiety pochodziły od 4 grup respondentów: przygotowujących leki, podających leki, zajmujących się wydzielinami pacjentów oraz usuwających zanieczyszczenia lekami. Ocena narażenia była szacunkowa i ilościowa, oparta na liczbie i częstotliwości zastosowania leku. Odsetek zgłaszanych dolegliwości i objawów był podobny jak w grupie kontrolnej, statystycznie znamienne różnice stwierdzono jedynie w przypadku biegunki (35% w grupie badanej, a 25% w grupie kontrolnej) i przewlekłego podrażnienia gardła (6% w grupie badanej, 2% w grupie kontrolnej). Częstość zgłaszanych objawów była większa w grupie pra-

cowników narażonych dermalnie, którzy nie stosowali środków ochrony skóry.

Pucci stwierdził, na podstawie wyników badań 12 pracowników (9 kobiet i 3 mężczyzn) przygotowujących i podających pacjentom cytostatyki, że jednym z pierwszych objawów narażenia na cytostatyki jest ból głowy (Pucci 2005). Wśród przygotowywanych leków oprócz cyklofosfamidu były także inne leki: ACNU, MTX, Carboplatinum, Mytoxantron, Vincristin, Novantron, ACNU i MTX. W pomieszczeniach do przygotowywania leków 66,6% badanych uskarżało się na bóle głowy. Stężenia badanych leków w tych pomieszczeniach były mniejsze od oznaczalności metody (HPLC/MS/MS).

Odnotowano 10 przypadków nowotworów w wyniku przyjmowania, oprócz cyklofosfamidu, także innych leków stosowanych w chemioterapii (innych niż Prednizon): 6 ostrych białaczek nieлимfatycznych (Cobau i wsp. 1973; Cazalis i wsp. 1976; Roberts, Bell 1976; Seidenfeld i wsp. 1976; Hochberg, Shulman 1978; Sheibani i wsp. 1980), 2 raki pęcherza (Dale, Smith 1974; Chasko i wsp. 1980), 1 mięsak siateczkowokomórkowy (Worlledge i wsp. 1968) i 1 czerniak (Manny i wsp. 1972).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność skutków działania rakotwórczego cyklofosfamidu od wielkości narażenia drogą pokarmową u szczurów Sprague-Dawley obojga płci podano w tabeli. 9.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIA NDS W POWIETRZU ŚRODOWISKA PRACY

Istniejące wartości NDS

Zarówno w Polsce, jak i w innych państwach nie ustalono dotychczas wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) cyklofosfamidu w powietrzu na stanowiskach pracy ani wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla narażenia zawodowego (RTECS 2014).

W stanie Kalifornia Agencja Ochrony Środowiska (CEPA) na mocy, tak zwanego Wniosku 65 (*Safe water and toxic enforcement act of 1986, Proposition 65*), umieściła cyklofosfamid w oficjalnym wykazie czynników rakotwórczych i toksycznych dla rozrodczości (State.... 1993). CEPA przyjęła – na podstawie, obliczonego z wyników zapadalności na nowotwory pęcherza w całożyciowym doświadczeniu na szczurach Sprague-Dawley (*Schmähl, Habs 1979*), współczynnika nachylenia krzywej zależności dawka-odpowiedź $0,57 \text{ (mg/kg mc./dzień)}^{-1}$ – poziom nieistotnego ryzyka (*no significant risk level, NSRL*) wynoszący 1 $\mu\text{g/dzień}$ za prawnie obowiązujący normatyw. Dawce tej odpowiada ryzyko 1 na 10^5 w ciągu całego okresu życia (dla masy ciała 70 kg). Po dawce dziennej w tej wysokości cyklofosfamid nie powinien również wpływać na rozrodczość (CEPA 1992; *Sargent i wsp. 2002*).

Koncepcję zupełnie nowego rodzaju ilościowego normatywu higienicznego dla narażenia na cyklofosfamid drogą dermalną (*dermal occupational exposure limit, DOEL*) przedstawili *Bos i wsp.*, którzy dla sprawdzenia tej koncepcji obliczyli proponowaną wartość

DOEL dla cyklofosfamidu (*Bos i wsp. 1998*). Wyliczyli oni, że dla zgodnego z wymaganiami holenderskiego Ministerstwa Pracy i Spraw Socjalnych ryzyka 4/1000 (wartość akceptowalna) i 4/100 000 (wartość docelowa) dawka wchłoniętego w narażeniu zawodowym cyklofosfamidu powinna wynosić, odpowiednio, 0,75 mg/dzień oraz 7,5 $\mu\text{g/dzień}$. Przy założeniu, że narażenie dermalne przy wstrzykiwaniu leku pacjentom jest ograniczone do powierzchni dłoni oraz przedramion (2000 cm^2), a po małych dawkach cyklofosfamid wchłania się przez skórę w 100%, to dawce 0,75 mg/dzień związku będzie odpowiadała wartość DOEL 0,4 $\mu\text{g/cm}^2$, a dawce 7,5 μg – 4 ng/cm^2 .

Podstawy proponowanej wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS)

Działanie rakotwórcze cyklofosfamidu jest skutkiem krytycznym wyprowadzenia normatywu higienicznego związku opartego na skutkach zdrowotnych. Jak omówiono wcześniej, na podstawie wyników licznych badań wykonanych w warunkach *in vitro*, wykazano, że cyklofosfamid po przemianie w aktywną formę wywołuje genotoksyczne skutki przez aktylację i tworzenie wiązań poprzecznych między niemi DNA i związanych białek. Cyklofosfamid jest uważany za bezpośrednio działający czynnik genotoksyczny, a sposób jego działania uzasadnia zastosowanie modeli linearnych do szacowania ryzyka.

Wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) cyklofosfamidu wyprowadzono z

danych współczynnika kierunkowego prostej dawka-odpowiedź (SF), (CEPA 1992; Skowroń, Czerczak 2013). Do wyliczenia wartości NDS wykorzystano współczynnik nachylenia krzywej dawka-odpowiedź na poziomie 0,57 mg/kg mc./dzień dla nowotworów pęcherza, który został obliczony i podany przez California EPA (CEPA 1992) na podstawie wyników całozyciowego narażenia szczurów na cyklofosfamid drogą pokarmową (Schmähl, Habs 1979).

Wchłoniętą dawkę cyklofosfamidu przy założonym ryzyku 10^{-4} obliczono na podstawie wzoru:

$$R = SF \cdot D,$$

gdzie:

- R – ryzyko,
- D – dawka średnia całozyciowa, mg/kg mc./dzień,
- SF – współczynnik nachylenia

$$D = \frac{R}{SF} = \frac{10^{-4}}{0,57} = 1,754 \cdot 10^{-4} \text{ mg/kg mc./dzień}$$

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= D \cdot \frac{24}{8} \cdot \frac{365}{240} \cdot \frac{70}{40} \cdot \frac{1}{10} \cdot 70 = \\ &1,754 \cdot 10^{-4} \cdot 55,9 = 0,0098 \text{ mg/m}^3, \end{aligned}$$

gdzie:

- D – dawka średnia całozyciowa, mg/kg mc./dzień,
- 24 – godziny (doba),
- 8 – liczba godzin pracy,
- 365 – liczba dni w roku,
- 240 – liczba dni pracy w roku,
- 70 – wiek (w latach),
- 40 – staż pracy, w latach,
- 10 – objętość powietrza wdychana w ciągu zmiany roboczej dla średnio ciężkiej pracy, m^3 ,
- 70 – masa ciała człowieka, kg.

Najwyższe dopuszczalne stężenie cyklofos-

famidu w obliczonej wysokości powinno chronić pracowników również przed białaczką, gdyż ryzyko białaczki w doświadczeniu, z którego wyników wyprowadzono wartość NDS, jest mniejsze niż ryzyko nowotworu pęcherza (Schmähl, Habs 1979; Sessink i wsp. 1995). W związku z powyższym, proponuje się przyjęcie wartości NDS cyklofosfamidu na poziomie 0,01 mg/m^3 . Brak jest podstaw merytorycznych do ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) cyklofosfamidu.

Przy przygotowywaniu leków dla pacjentów skóra może być dużo istotniejszą drogą wchłaniania cyklofosfamidu niż układ oddechowy (Sessink i wsp. 1994; Kromhout i wsp. 2000; IARC 2011), więc poziom cyklofosfamidu lub jego metabolitów w materiale biologicznym byłby ważnym wskaźnikiem wchłaniania, uwzględniającym wszystkie drogi narażenia. Punktem wyjścia do ustalenia wartości dopuszczalnego stężenia cyklofosfamidu w materiale biologicznym (DSB) była dawka średnia całozyciowa dla narażenia zawodowego (40 lat, 240 dni w roku, 8 h/dzień) obliczona na podstawie tego samego doświadczenia (Schmähl, Habs 1979), którego wyniki posłużyły do wyprowadzenia wartości NDS cyklofosfamidu. Wynosi ona 100 $\mu\text{g/dzień}$. Przyjęto, za wynikami narażenia dermalnego ochotników (Hirst i wsp. 1984), że w ciągu 24 h 1% wchłoniętego cyklofosfamidu będzie wydalony w postaci niezmienionej. Na tej podstawie dawce 100 $\mu\text{g/dzień}$ będzie odpowiadało wydalanie 1 μg cyklofosfamidu w moczu w ciągu 24 h.

Należy zastosować do oznaczania cyklofosfamidu także notację „skóra” (wchłanianie substancji przez skórę może być podobnie istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową), a także oznakowanie literami „Ft” (substancja działająca szkodliwie na płód).

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA

dr hab. n. med. MARTA WISZNIEWSKA
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. J. Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ krwiotwórczy, układ krążenia, układ oddechowy, nerki, wątrobę, pęcherz moczowy, skórę, a w zależności od wskazań badanie dermatologiczne.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badania czynności wątroby (poziom bilirubiny, ALT i AST), EKG, badanie ogólne moczu, stężenie kreatyniny w surowicy.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ krwiotwórczy, układ krążenia, układ oddechowy, nerki, wątrobę, pęcherz moczowy, skórę, a w zależności od wskazań badanie dermatologiczne.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badania czynności wątroby (poziom bilirubiny, ALT i AST), EKG, badanie ogólne moczu oraz stężenie kreatyniny w surowicy.

Częstotliwość badań okresowych: co roku lub co 2 lata.

U w a g a

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbędne do prawidłowej oceny stanu zdrowia pracownika lub osoby przyjmowanej do pracy.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ krwiotwórczy, układ krążenia, układ oddechowy, nerki, wątrobę, pęcherz moczowy, skórę, a w zależności od wskazań badanie dermatologiczne.

Badania pomocnicze: morfologia krwi, badania czynności wątroby (poziom bilirubiny, ALT i AST), EKG, badanie ogólne moczu oraz stężenie kreatyniny w surowicy.

Narządy (układy) krytyczne

Szpik kostny i nerki.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na cyklofosfamid są:

- choroby przebiegające z zaburzeniami czynności szpiku kostnego (m.in. leukopenia, neutropenia, trombocytopenia)
- nawrotowe zapalenie skóry o charakterze wyprysku kontaktowego, atopowego zapalenia skóry, łysienie
- kardiomiopatie, zaawansowana niewydolność krążenia
- przewlekłe choroby dróg moczowych i pęcherza
- przewlekłe choroby nerek lub wątroby przebiegające z uszkodzeniem mięszy tych narządów
- zaburzenia płodności i istotne zaburzenia miesiączkowania.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

Cyklofosfamid jest zaklasyfikowany jako substancja rakotwórcza kategorii 1.A i mutagenna kategorii 2.B, dlatego w narażeniu na cyklofosfamid nie wolno zatrudniać pracowników młodocianych i kobiet w ciąży.

W trakcie badań profilaktycznych należy poinformować pracowników o rakotwórczym działaniu cyklofosfamidu oraz uprzedzić o zwiększonym ryzyku raka pęcherza i ostrej białaczki szpikowej.

Pracownicy powinni być informowani o wpływie cyklofosfamidu na rozrodczość. Ze względu na powodowanie bezpłodności i zwiększone ryzyko poronień, w narażeniu na cyklofosfamid nie powinny być zatrudniane kobiety, u których występują trudności z zajściem w ciążę oraz jej utrzymaniem.

PIŚMIENNICTWO

- Adamiak-Ziemia J., Wnuk M.* (1994) Substancje rakotwórcze w środowisku pracy. Zagrożenia zdrowotne w warunkach narażenia zawodowego pracowników służby zdrowia na cytostatyki. Łódź, IMP, t. XI, 66.
- Alarcon R.A.* (1976) Studies on the in vivo formation of acrolein: 3-hydroxypropylmercapturic acid as an index of cyclophosphamide (NSC-26271) activation. *Cancer Treat. Rep.* 60, 327–335.
- Amato D., Niblett J.S.* (1977) Neutropenia from cyclophosphamide in breast milk. *Med. J. Aust.* 1, 383–384.
- American Academy of Pediatrics, Committee on Drugs (2001) The transfer of drugs and other chemicals into human breast milk. *Pediatrics* 108, 776–89.
- Aptekar R.G., Atkinson J.P., Decker J.L., Wolff S.M., Chu E.W.* (1973) Bladder toxicity with chronic oral cyclophosphamide therapy in nonmalignant disease. *Arthritis Rheum.* 16, 461–7.
- Arnold H., Bourseaux F.* (1958) Synthese und Abbau cytostatisch wirksamer cyclischer N-Phosphamidester des Bis- β (chloroethyl)amins. *Angew. Chern.* 70, 539–544 [cyt. za IARC 1975].
- Ataya K., Moghissi K.* (1989) Chemotherapy induced premature ovarian failure: mechanisms and prevention. *Steroids* 54, 607–26.
- Austin H.A. III, Klippel J.H., Balow J.E., le Riche N.G., Steinberg A.D., Plotz P.H.* i wsp. (1986) Therapy of lupus nephritis: controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs. *N. Engl. J. Med.* 314, 614–9.
- Bagley C.M. Jr., Bostick F.W., DeVita V.T. J.* (1973) Clinical pharmacology of cyclophosphamide. *Cancer Res.* 33, 226–233.
- Baker G.L., Kahl L.E., Zee B.C., Stolzer B.L., Agarwal A.K., Medsger T.A. Jr.* (1987) Malignancy following treatment of rheumatoid arthritis with cyclophosphamide. Long-term case-control follow-up study. *Am. J. Med.* 83, 1–9.
- Balu N., Gamcsik M.P., Colvin M.E., Colvin O.M., Dolan M.E., Ludeman S.M.* (2002) Modified guanines representing O⁶-alkylation by the cyclophosphamide metabolites acrolein and chloroacetaldehyde: synthesis, stability, and ab initio studies. *Chem. Res. Toxicol.* 15, 380–387 [cyt. za IARC 2011].
- Bashour B.N., Mancor K., Rance C.P.* (1973) Malignant mixed Mullerian tumor of the cervix following cyclophosphamide therapy for nephrotic syndrome. *J. Pediatr.* 82, 292–293.
- Baxter (2009) Charakterystyka produktu leczniczego: endoxan. Baxter Polska Sp. z o.o. [http://baxter.com.pl/downloads/charakterystyki/Oncology/Endoxan_50mg.pdf].

- Bennett A.H. (1974) Cyclophosphamide and hemorrhagic cystitis. *J. Urol.* 111, 603–606.
- Bergsagel D.E., Robertson G.L., Hasselback R. (1968) Effect of cyclophosphamide on advanced lung cancer and the hematological toxicity of large, intermittent intravenous doses. *Canad. Med. Ass. J.* 98, 532–538.
- Black S.M., Ellard S., Meehan R.R., Parry J.M., Adesnik M., Beggs J.D., Wolf C.R. (1989) The expression of cytochrome P450IIB1 in *Saccharomyces cerevisiae* results in an increased mutation frequency when exposed to cyclophosphamide. *Carcinogenesis* 10, 2139–2143 [cyt. za IARC 2011].
- Blatt J., Mulvihill J.J., Ziegler J.L., Young R.C., Poplack D.G. (1980) Pregnancy outcome following cancer chemotherapy. *Am. J. Med.* 69, 828–832.
- Bos P.M.J., Brouwer D.H., Stevenson H., Boogaard P.J., de Kort W.L.A.M., van Hemmen J.J. (1998) Proposal for the assessment of quantitative dermal exposure limits in occupational environments: part I. Development of a concept to derive a quantitative dermal exposure limit. *Occup. Environ. Med.* 55, 795–804.
- Branda R.F., Brooks E.M., Chen Z., Naud S.J., Nicklas J.A. (2002) Dietary modulation of mitochondrial DNA deletions and copy number after chemotherapy in rats. *Mutat. Res.* 501, 29–36.
- Brincker H., Mouridsen H.T., Andersen K.W., Rose C., Dombrowsky P. (1989) Castration induced by cytotoxic chemotherapy (letter). *J. Clin. Oncol.* 7, 679–80.
- Brinkworth M.H., Nieschlag E. (2000) Association of cyclophosphamide-induced male-mediated, foetal abnormalities with reduced paternal germcell apoptosis. *Mutat. Res.* 447, 149–54.
- Brock N., Gross R., Hohorst H.-J., Klein H.O., Schneider B. (1971) Activation of cyclophosphamide in man and animals. *Cancer* 27, 1512–1529.
- Brock N., Stekar J., Pohl J., Niemeyer U., Scheffler G. (1979a) Acrolein, the causative factor of urotoxic side-effects of cyclophosphamide, ifosfamide, trofosfamide and sufosfamide. *Arzneimittel-Forsch./Drug Res.* 29, 659–661 [cyt. za IARC 2011].
- Brock N., Stekar J., Pohl J., Scheef W. (1979b) Antidote against the urotoxic effects of the oxazaphosphorine derivatives cyclophosphamide, ifosfamide and trofosfamide (Ger.). *Naturwissenschaften* 66, 60–61.
- Burgaz S., Karahalil B., Bayrak P., Taşkin L., Yavuzaslan F. i wsp. (1999) Urinary cyclophosphamide excretion and micronuclei frequencies in peripheral lymphocytes and in exfoliated buccal epithelial cells of nurses handling antineoplastics. *Mutat. Res.* 439, 97–104.
- Burgaz S., Karahalil B., Canli Z., Terzioglu F., Anceci G., Anzion R.B.M., Bos R.P., Hüntner E. (2002) Assessment of genotoxic damage in nurses occupationally exposed to antineoplastics by the analysis of chromosomal aberrations. *Hum. Exp. Toxicol.* 21, 129–135.
- Busse D., Busch W., Bohnenstengel F., Eichelbaum M., Fischer P. i wsp. (1997) Dose escalation of cyclophosphamide in patients with breast cancer: consequences for pharmacokinetics and metabolism. *J. Clin. Oncol.* 15, 1885–1896.
- Cai Y., Wu M.H., Ludeman S.M., Grdina D.J., Dolan M.E. (1999) Role of O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase in protecting against cyclophosphamide-induced toxicity and mutagenicity. *Cancer Res.* 59, 3059–3063 [cyt. za IARC 2011].
- van Calsteren K., Verbesselt R., Beijnen J., Devlieger R., De Catte L., Chai D.C., Van Bree R., Heyns L., de Hoon J., Amant F. (2010) Transplacental transfer of anthracyclines, vinblastine, and 4-hydroxy-cyclophosphamide in a baboon model. *Gynecol. Oncol.* 119(3), 594–600 [cyt. za IARC 2011].
- Cameron J.S., Chantler C., Ogg C.S., White R.H.R. (1974) Long-term stability of remission in nephrotic syndrome after treatment with cyclophosphamide. *Br. Med. J.* 7–11.
- Campobasso O., Berrino F. (1972) Early effects of cyclophosphamide on mouse bladder epithelium. *Pathol. Microbiol.* 38, 144–157.
- Čáp, J., Mišíková Z. (1975) Chronic myelogenous leukaemia as a possible consequence of immunosuppressive treatment of nephrotic syndrome (Ger.). *Monatsschr. Kinderheilkd.* 123, 718–720.
- Carette S., Klippel J.H., Decker J.L., Austin H.A., Plotz P.H., Steinberg A.D. i wsp. (1983) Controlled studies of oral immunosuppressive drugs in lupus nephritis: a long-term follow-up. *Ann. Intern. Med.* 99, 1–8.
- Casciato D.A., Scott J.L. (1979) Acute leukemia following prolonged cytotoxic agent therapy. *Medicine* 58, 32–47.
- van Casteren N.J., van der Linden G.H., Hakvoort-Cammel F.G., Hhlen K., Dohle G.R., van den Heuvel-Eibrink M.M. (2009) Effect of childhood cancer treatment on fertility markers in adult male long-term survivors. *Pediatr. Blood Cancer* 52(1), 108–12.

- Cavallo D., Ursini C.L., Perniconi B., Francesco A.D., Giglio M., Rubino F.M., Marinaccio A., Iavicoli S.* (2005) Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees. *Mutat. Res.* 587, 45–51 [cyt. za IARC 2011].
- Cazalis P., Caroit M., Zittoun R., Kahn M.-F., de Séze S.* (1976) A particular risk in long-term immunosuppressive treatment: a case of acute myelomonocytic leukaemia after treatment with chlorambucil for severe rheumatoid polyarthritis (Fr.). *Rev. Rhum.* 43, 431–435.
- CEPA (1992) Expedited cancer potency values and proposed regulatory levels for certain proposition 65 carcinogens. California Environmental Protection Agency. Office of Environmental Hazards Assessment, Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section [<http://oehha.ca.gov/prop65/pdf/expcancer.pdf>].
- Chandramouli K., Sivaramakrishnan V.M.* (1969) Radiation and radiomimetic agents. I. The distribution of P 3 2 -labelled cyclophosphamide in albino rats and in humans. *Indian J. Cancer* 6, 153–164.
- Chang J., Geary C.G.* (1977) Therapy-linked leukaemia. *Lancet* Jan 8, 1(8002), 97.
- Chasko S.B., Keuhnelian J.G., Gutowski W.T. III., Gray G.F.* (1980) Spindle cell cancer of bladder during cyclophosphamide therapy for Wegener's granulomatosis. *Am. J. Surg. Pathol.* 4, 191–196.
- Chaube S., Kreis W., Uchida K., Murphy M.L.* (1968) The teratogenic effects of the recent drugs active in cancer chemotherapy. *Adv. Teratol.* 3, 181–237.
- Chu W.C., Hon C.Y., Danyluk Q., Chua P., Astrakianakis G.* (2011) Pilot assessment of the antineoplastic drug contamination levels in British-Columbian hospitals pre- and post-cleaning. I *Oncol. Pharm. Practice* 18(1), 46–51.
- Clavert J.M., Brun B., Clavert A., Buck P.* (1978) Limb anomalies obtained with cyclophosphamide in rabbit embryos (Fr.). *Chir. Pediatr.* 19, 205–207.
- Clayson D.B., Cooper E.H.* (1969) The immediate response of bladder epithelium to injury by chemical carcinogens. *Brit. J. Urol.* 41, 710–713.
- Clowse M.E.B., Magder L., Petri M.* (2005) Cyclophosphamide for lupus during pregnancy. *Lupus* 14 (8), 593–7.
- Coates A.* (1970) Cyclophosphamide in pregnancy. *Aust. NZ J Obstet. Gynaecol.* 10, 334.
- Cobau C.D., Sheon R.P., Kirsner A.B.* (1973) Immunosuppressive drugs and acute leukemia. *Ann. Intern. Med.* 79, 131–132.
- Codrington A.M., Hales B.F., Robaire B.* (2007) Exposure of male rats to cyclophosphamide alters the chromatin structure and basic proteome in spermatozoa. *Hum. Reprod.* 22(5), 1431–42.
- Cohen S.M., Garland E.M., St John M., Okamura T., Smith R.A.* (1992) Acrolein initiates rat urinary bladder carcinogenesis. *Cancer Res.* 52, 3577–3581.
- Colvin M.* (1978) A review of the pharmacology and clinical use of cyclophosphamide [W:] Clinical pharmacology of anti-neoplastic drugs. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press 245–261 [cyt. za IARC 1981].
- Colvin M., Padgett C.A., Fenselau C.* (1973) A biologically active metabolite of cyclophosphamide. *Cancer Res.* 33, 915–918.
- Connors T.A.* (1978) Antitumour drugs with latent activity. *Biochimie* 60, 979–987.
- Connors T.A.* (1979) Alkylating drugs, nitrosourea and dialkyltriazenes [W:] Cancer chemotherapy [Red.] H.M. Pinedo. The EORTC Cancer Chemotherapy Annual. Amsterdam, Excerpta Medica, 25–55 [cyt. za IARC 1981].
- Connors T.A., Cox P.J., Farmer P.B., Foster A.B., Jarman M.* (1974) Some studies of the active intermediates formed in the microsomal metabolism of cyclophosphamide and isophosphamide. *Biochem. Pharmacol.* 23, 115–129.
- Correa A., Cragan J.D., Kucik J.E., Alverson C.J., Gilboa S.M., Balakrishnan R., Strickland M.J., Duke C.W., O'Leary L.A., Riehle-Colarusso T., Siffel C., Gambrell D., Thompson D., Atkinson M., Chitra J.* (2007) Reporting birth defects surveillance data 1968-2003. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 79(2), 65–186.
- Cox P.J.* (1979) Cyclophosphamide cystitis—identification of acrolein as the causative agent. *Biochem. Pharmacol.* 28, 2045–2049.
- Cox P.J., Abel G.* (1979) Cyclophosphamide-induced cystitis: its cause and possible clinical significance. *Br. J. Cancer* 40, 311 [Abstract].
- Cox P.J., Farmer P.B., Jarman M., Kinas R.W., Stec W.J.* (1978) Stereoselectivity in the metabolism of the enantiomers of cyclophosphamide in mice, rats and rabbits. *Drug. Metab. Disposition* 6, 617–622.
- Crocitto L.E., Simpson J.F., Wilson T.G.* (1996) Bladder augmentation in the prevention of cyclophosphamide-induced haemorrhagic cystitis in the rat model. *Br. J. Urol.* 78, 530–533.

- da Cunha I., Saavedra M.J., Pereira da Silva J.A., Malcata A. (2008) Cyclophosphamide induced amenorrhoea in premenopausal women with systemic lupus erythematosus. *Acta Reumatol Port* 33(1), 69–76.
- Dale G.A., Smith R.B. (1974) Transitional cell carcinoma of the bladder associated with cyclophosphamide. *J. Urol.* 112, 603–604.
- Darroudi F., Natarajan A.T. (1993). Metabolic activation of chemicals to mutagenic carcinogens by human hepatoma microsomal extracts in Chinese hamster ovary cells (in vitro). *Mutagenesis* 8, 11–15.
- Deshayes P., Renier J.C., Bregeon C., Houdent G. (1971) Incidents and accidents with immunosuppressive therapy for rheumatoid polyarthritis (Fr.). *Rev. Rhum.* 38, 797–806.
- D'Incalci M., Bolis G., Facchinetti T., Mangioni C., Morasca L., Morazzoni P., Salmona M. (1979) Decreased half life of cyclophosphamide in patients under continual treatment. *Eur. J. Cancer* 15, 7–10.
- D'Incalci M., Sessa C., Colombo N., de Palo G., Semprini A.E., Pardi G. (1982) Transplacental passage of cyclophosphamide. *Cancer Treat. Rep.* 66(8), 1681–1682.
- Doehmer J., Seidel A., Oesch F., Glatt H.R. (1990) Genetically engineered V79 Chinese hamster cells metabolically activate the cytostatic drugs cyclophosphamide and ifosfamide. *Environ Health Perspect* 88, 63–65.
- Doehmer J., Wölfel C., Dogra S., Doehmer C., Seidel A., Platt K.L., Oesch F., Glatt H.R. (1992) Applications of stable V79-derived cell lines expressing rat cytochromes P4501A1, 1A2, and 2B1. *Xenobiotica* 22, 1093–1099.
- Domeyer B.E., Sladek N.E. (1980) Kinetics of cyclophosphamide biotransformation in vivo. *Cancer Res.* 40, 174–180.
- Duncan J.H., Colvin O.M., Fenselau C. (1973) Mass spectrometric study of the distribution of cyclophosphamide in humans. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 24, 317–323.
- Durodola J.I. (1979) Administration of cyclophosphamide during late pregnancy and early lactation: a case report. *J. Natl. Med. Assoc.* 71, 165.
- Eastin W.C., Mennear J.H., Tennant R.W., Stoll R.E., Branstetter D.G. i wsp. (2001) Tg.AC genetically altered mouse: assay working group overview of available data. *Toxicol. Pathol.* 29, suppl., 60–80.
- Ellard S., Mohammed Y., Dogra S., Wölfel C., Doehmer J., Parry J.M. (1991) The use of genetically engineered V79 Chinese hamster cultures expressing rat liver CYP1A1, 1A2 and 2B1 cDNAs in micronucleus assays. *Mutagenesis* 6, 461–470.
- Enns G.M., Roeder E., Chan R.T., Ali-Khan Catts Z., Cox V.A., Golabi M. (1999) Apparent cyclophosphamide (cytoxan) embryopathy: a distinct phenotype? *Am. J. Med. Genet.* 86, 237–241.
- Faber O.K., Mouridsen H.T., Skovsted L. (1975) The effect of chloramphenicol and sulphaphenazole on the biotransformation of cyclophosphamide in man. *Sr. J. Clin. Pharmacol.* 2, 281–285.
- Faurschou M., Sorensen I.J., Mellekjaer L., Loft A.G., Thomsen B.S., Tvede N. i wsp. (2008) Malignancies in Wegener's granulomatosis: incidence and relation to cyclophosphamide therapy in a cohort of 293 patients. *J. Rheumatol.* 35, 100–5.
- Fenselau C. (1976) Review of the metabolism and mode of action of cyclophosphamide. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 59, 1028–1036.
- Fenselau C., Kan M.-N.N., Billets S., Colvin M. (1975) Identification of phosphorodiamidic acid mustard as a human metabolite of cyclophosphamide. *Cancer Res.* 35, 1453–1457.
- Fenselau C., Kan M.-N.N., Rao S.S., Myles A., Friedman O.M., Colvin M. (1977) Identification of aldophosphamide as a metabolite of cyclophosphamide in vitro and in vivo in humans. *Cancer Res.* 37, 2538–2543.
- Fernandez M., Andrade R., Alarcen G.S. (2006) Cyclophosphamide use and pregnancy in Lupus. *Lupus* 15(1), 59.
- Forni A.M., Koss L.G., Geller W. (1964) Cytological study of the effect of cyclophosphamide on the epithelium of the urinary bladder in man. *Cancer* 17, 1348–1355.
- Fosdick W.M., Parsons J.L., Hill D.F. (1969) Long-term cyclophosphamide (CP) therapy in rheumatoid arthritis: a progress report, six years ' experience. *Arthritis-Rheum.* 12, 663.
- Fransman W., Vermeulen R., Kromhout H. (2005). Dermal exposure to cyclophosphamide in hospitals during preparation, nursing and cleaning activities. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 78, 403–412.
- Fransman W., Huizer D., Tuerk J., Kromhout H. (2007a) Inhalation and dermal exposure to eight antineoplastic drugs in an industrial laundry facility. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 80, 396–403.
- Fransman W., Peelen S., Hilhorst S., Roeleveld N., Heederik D., Kromhout H. (2007b) A Pooled Analysis to Study Trends in Exposure to Antineoplastic Drugs Among Nurses. *Ann. Occup. Hyg.* 51(3), 231–239.

- Fransman W., Kager H., Meijster T., Heederik D., Kromhout H., Portengen L., Blaauboer B.J. (2014) Leukemia from dermal exposure to cyclophosphamide among nurses in the Netherlands. Quantitative Assessment of Risk. *Ann. Occup. Hyg.* 58(3), 271–282.
- Friedman H.S., Pegg A.E., Johnson S.P., Loktionova N.A., Dolan M.E. i wsp. (1999). Modulation of cyclophosphamide activity by O⁶-alkylguanine-DNA alkyltransferase. *Cancer Chemother Pharmacol.* 43, 80–85 [cyt. za IARC 2011].
- Fritz H., Hess R. (1971) Effects of cyclophosphamide on embryonic development in the rabbit. *Agents Actions* 2(2), 83–86.
- Gibson J.E., Becker B.A. (1968) The teratogenicity of cyclophosphamide in mice. *Cancer Res.* 28, 475–480.
- Gibson J.E., Becker B.A. (1971) Effect of phenobarbital and SKF 525A on placental transfer of cyclophosphamide in mice. *J. Pharmacol. expo Ther.* 177, 256–262.
- Gilmore L.T., Cowan R.E., Axon A.T.R., Thompson R.P.H. (1979) Controlled trial of cyclophosphamide in active chronic hepatitis. *Br. Med. J.*, 1 (1671), 1120–1121.
- Gismondi C., Dabove L., Dovì M., Picciotto A., Savarino V., Testa R., Mansi C. (1980) Hepatotoxicity of cyclophosphamide in the rat after prolonged treatment: a histomorphological study. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* 56(21), 2166–72 (in Ital.).
- Gorelick N.J., Andrews J.L., deBoer J.G., Young R., Gibson D.P., Walker V.A. (1999) Tissue-specific mutant frequencies and mutational spectra in cyclophosphamide-treated lacI transgenic mice. *Environ. Mol. Mutagen.* 34, 154–166.
- Green D.M., Kawashima T., Stovall M., Leisenring W., Sklar C.A., Mertens A.C., Donaldson S.S., Byrne J., Robison L.L. (2010) Fertility of male survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J. Clin. Oncol.* 28(2), 332–9.
- Greenberg L.H., Tanaka K.R. (1964) Congenital anomalies probably induced by cyclophosphamide. *J. Am. Med. Assoc.* 188, 423–426.
- Greene M.H., Harris E.L., Gershenson D.M., Malhasian G.D., Melton L., Dempo A.J., Bennet J.M., Moloney W.C., Boice J.D. (1986) Melphalan may be a more potent leukemogen than cyclophosphamide. *Ann. Intern. Med.* 105, 360–367.
- Haas J.F., Kittelmann B., Mehnert W.H., Staneczek W., Mohner M., Kaldor J.M., Day N.E. (1987) Risk of leukaemia in ovarian tumour and breast cancer patients following treatment by cyclophosphamide. *Br. J. Cancer* 55, 213–218.
- Habibullah C.M., Chhuttani P.N., Sehgal A.K. (1979) Effect of oral cyclophosphamide on the rat intestine. *Indian J. Med. Sci.* 33, 180–184.
- Habs M.R., Schmähl D. (1983) Prevention of urinary bladder tumors in cyclophosphamide-treated rats by additional medication with the uroprotectors sodium 2-mercaptoethane sulfonate (mesna) and disodium 2,2'-dithiobis-ethane sulfonate (dimesna). *Cancer* 51, 606–609.
- Hales B.F., Smith S., Robaire B. (1986) Cyclophosphamide in the seminal fluid of treated males: transmission to females by mating and effect on pregnancy outcome. *Tox. Appl. Pharmacol.* 84, 423–430.
- Hartmann A., Herkommer K., Glück M., Speit G. (1995) DNA-damaging effect of cyclophosphamide on human blood cells in vivo and in vitro studied with the single cell gel test (comet assay). *Environ. Mol. Mutagen* 25, 180–187.
- Hedmer M., Höglund P., Cavallin-Stähl E., Albin M., Jönsson B.A. i wsp. (2008) Validation of urinary excretion of cyclophosphamide as a biomarker of exposure by studying its renal clearance at high and low plasma concentrations in cancer patients. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 285–293.
- Hegewald G., Barenwald G. (1972) Morphological changes in rat liver after long-term cyclophosphamide medication (Ger.). *Acta hepatogastroenterol* 19, 85–90.
- Hirst M., Mills D.G., Tse S., Levin L., White D.F. (1984) Occupational exposure to cyclophosphamide. *Lancet* 323 (8370), 186–188.
- Hochberg M.C., Shulman L.E. (1978) Acute leukemia following cyclophosphamide therapy for Sjogren's syndrome. *Johns Hopkins Med. J.* 142, 211–214.
- Hoorn A.J., Custer L.L., Myhr B.C., Brusick D., Gossen J., Vijg J. (1993) Detection of chemical mutagens using Muta® Mouse: a transgenic mouse model. *Mutagenesis* 8, 7–10.
- Hoyes K.P., Wadeson P.J., Sharma H.L., Hendry J.H., Morris I.D. (1998) Mutation studies in lacI transgenic mice after exposure to radiation or cyclophosphamide. *Mutagenesis* 13, 607–612.
- HSDB (2014) [<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>].
- IARC (1975) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. T. 9. Some aniziridines, N-,S-, and O-mustards and selenium. Lyon.

- IARC (1987a) Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes 1 to 42. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. T. 7, 1–440.
- IARC (1987b) Genetic and related effects. An updating of selected IARC monographs from volumes 1 to 42. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon suppl. 6, 1–729.
- IARC (1995) Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. T. 63, 1–551.
- IARC (2011) Cyclophosphamide [W:] IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. T. 100, A Review of Human Carcinogens. Part A. Pharmaceuticals 65–96.
- IUCLID (2014) Baza danych on-line [<http://esis.jrc.ec.europa.eu/>].
- IFA (2014) Baza danych GESTIS on-line [[http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=templates\\$fn=default.htm\\$vid=gestiseng:sdbeng](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll?f=templates$fn=default.htm$vid=gestiseng:sdbeng)].
- IUCLID (2011) Chemical Data Sheet.
- Jahnukainen K., Heikkinen R., Henriksson M., Cooper T.G., Puukko-Viertomies L.R., Mkitie O.* (2011) Semen quality and fertility in adult longterm survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Fertil Steril* 96(4), 837–42.
- Jaśkiewicz K.* (1979) Wywołane cyklofosfamidem uszkodzenia tkanki płucnej u myszy. *Ann. Acad. Med. Gedan* 9, 71–77.
- Jeffrey L.P.* (1987) National Study Commission on Cytotoxic Exposure. Position Statement. The handling of cytotoxic agents by women who are pregnant, attempting to conceive or breast feeding. Jan 12 [http://ctep.cancer.gov/handbook/append_13.html].
- Joqueviel C., Martino R., Gilard V., Malet-Martino M., Canal P., Niemeyer U.* (1998) Urinary excretion of cyclophosphamide in humans, determined by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Drug. Metab. Dispos.* 26, 418–428.
- Johnson W.W., Meadows D.C.* (1971) Urinary-bladder fibrosis and telangiectasia associated with longterm cyclophosphamide therapy. *New Engl. J. Med.* 284, 290–294.
- de Junge M.E., Huitema A., Beijnen J.H., Rodenhuis S.* (2006) High exposures to bioactivated cyclophosphamide are related to the occurrence of venoocclusive disease of the liver following high-dose chemotherapy. *Br. J. Cancer* 94, 1226–1230.
- Kahn M.F., Arlet J., Bloch-Michel H., Caroit M., Chaouat Y., Renier J.C.* (1979) Acute leukaemias after treatment with cytotoxic agents in rheumatology. 19 observations among 2006 patients (Fr.). *Nouv. Presse Med.* 8, 1393–1397.
- Kalweit S., Utesch D., von der Hude W., Madle S.* (1999) Chemically induced micronucleus formation in V79 cells—comparison of three different test approaches. *Mutat. Res.* 439, 183–190.
- Kanazawa K., Suzuki T., Sakumoto K.* (2000) Treatment of malignant ovarian germ cell tumors with preservation of fertility: reproductive performance after persistent remission. *Am. J. Clin. Oncol.* 23, 244–8.
- Kapadia S.B., Kaplan S.S.* (1976) Simultaneous occurrence of non-Hodgkin's lymphoma and acute myelomonocytic leukemia. *Cancer* 38, 2557–2560.
- Kapadia S.B., Kaplan S.S.* (1978) Acute myelogenous leukemia following immunosuppressive therapy for rheumatoid arthritis. *Am. J. Clin. Pathol.* 70, 301–302.
- Kapadia S.B., Krause J.R., Ellis L.O., Pan S.F., Wald N.* (1980) Induced acute non-lymphocytic leukemia following long-term chemotherapy. A study of 20 cases. *Cancer* 45, 1315–1321.
- Kar A.K., Singh S., Sanyal A.K.* (1974) Cyclophosphamide induced hydrocephalus in chick embryos. *Indian J. Med. Res.* 62, 905–908.
- Kelly W.A., Nelson L.W., Hawkins H.C., Weikel J.H. Jr.* (1974) An evaluation of the tumorigenicity of cyclophosphamide and urethan in newborn mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 27, 629–640.
- Kende G., Sirkin S.R., Thomas P.R.M., Freeman A.I.* (1979) Blurring of vision. A previously undescribed complication of cyclophosphamide therapy. *Cancer* 44, 69–71.
- Kenney L.B., Laufer M.R., Grant F.D., Grier H., Diller L.* (2001) High risk of infertility and long term gonadal damage in males treated with high dose cyclophosphamide for sarcoma during childhood. *Cancer* 91, 613–21.
- Kevekordes S., Gebel T.W., Hellwig M., Dames W., Dunkelberg H.* (1998) Human effect monitoring in cases of occupational exposure to antineoplastic drugs: a method comparison. *Occup. Environ. Med.* 55, 145–149.
- Khan M.A., Travis L.B., Lynch C.F., Soini Y., Hruszkewycz A.M., Delgado R.M.* i wsp. (1998) P53 mutations in cyclophosphamide-associated bladder cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7, 397–403.

- Kikuno T., Honma M., Ogura S. i wsp. (1995) DNA fingerprint analysis in chemically mutagenized Chinese hamster lung cells. *Mutat. Res.* 338, 87–93.
- Kirsch-Volders M., Sofuni T., Aardema M., Albertini S., Eastmond D., Fenech M. i wsp. (2003) Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Mutat. Res.* 540, 153–163.
- Kirshon B., Wasserstrum N., Willis R., Herman G.E., McCabe E.R. (1988) Teratogenic effects of first trimester cyclophosphamide therapy. *Obstet. Gynecol.* 72, 462.
- Knight A., Askling J., Ekblom A. (2002) Cancer incidence in a populationbased cohort of patients with Wegener's granulomatosis. *Int. J. Cancer* 100, 82–5.
- Knight A., Askling J., Granath F., Sørensen P., Ekblom A. (2004) Urinary bladder cancer in Wegener's granulomatosis: risks and relation to cyclophosphamide. *Ann. Rheum. Dis.* 63, 1307–11.
- Köhler E., Merker H. J. (1973) Effect of cyclophosphamide pretreatment of pregnant animals on the activity of nuclear DNA-dependent RNA-polymerases in different parts of rat embryos. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 277, 71–88.
- Konieczko K., Czerczak S., Kluszczyński D. (2004) Narażenie zawodowe na chemiczne czynniki rakotwórcze w Polsce w 2001 r. *Med. Pracy* 55(1), 3–6.
- Koss L.G. (1967) A light and electron microscopic study of the effects of a single dose of cyclophosphamide on various organs in the rat. I. The urinary bladder. *Lab. Invest.* 16, 44–65.
- Koyama H., Wada T., Nishizawa Y., Iwanaga T., Aoki Y., Terasawa T., Kosaki G., Yamamoto T., Wada A. (1977) Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 39, 1403–1409.
- von Kreybig T. (1965) Teratogenic effect of cyclophosphamide during the embryonal development phase in rats (Ger.). *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.* 252, 173–195.
- Kromhout H., Hoek F., Uitterhoeve R., Huijbers R., Overmars R.F., Anzion R., Vermeulen R. (2000) Postulating a dermal pathway for exposure to antineoplastic drugs among hospital workers. Applying a conceptual model to the three workplace surveys. *Ann. Occup. Hyg.* 44, 551–560.
- Kugler U., Bauchinger M., Schmid E., Göggelmann W. (1987) The effectiveness of S9 and microsomal mix on activation of cyclophosphamide to induce genotoxicity in human lymphocytes. *Mutat. Res.* 187, 151–156.
- Kuis W., de Kraker J., Kuijten R.H., Doncker-Wolcke R.A., Voute P.A. (1976) Acute lymphoblastic leukaemia after treatment of nephrotic syndrome with immunosuppressive drugs. *Helv. Paediatr. Acta* 31, 91–95.
- Kulka U., Doehmer J., Glatt H.R., Bauchinger M. (1993) Cytogenetic effects of promutagens in genetically engineered V79 Chinese hamster cells expressing cytochromes P450. *Eur. J. Pharmacol.* 228, 299–304.
- Kwanyuen P., Erexson G.L., Bryant M.F., Kligerman A.D. (1990) Comparison of sister-chromatid exchange frequencies in mouse T- and B-lymphocytes after exposure to 4-hydroxycyclophosphamide or phosphoramidate mustard. *Mutat. Res.* 245, 293–297.
- Langevitz P., Klein L., Pras M., Many A. (1992) The effect of cyclophosphamide pulses on fertility in patients with lupus nephritis. *Am J. Reprod. Immunol.* 28, 157–158.
- Lavin P., Koss L.G. (1971) Effects of a single dose of cyclophosphamide on various organs in the rat. III. Electron microscopic study of the liver. *Amer. J. Pathol.* 62, 159–168.
- Lazalde B., Grijalva-Flores J., Guerrero-Romero F., Klippel J.H. (2012) Feil syndrome in a boy exposed inadvertently to cyclophosphamide during pregnancy: a case report. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 94 (4), 249–52.
- Leyder M., Laubach M., Breugelmanns M., Keymolen K., De Greve J., Foulon W. (2010) Specific congenital malformations after exposure to cyclophosphamide, epirubicin and 5-fluorouracil during the first trimester of pregnancy. *Gynecol. Obstet. Invest.* 71(2), 141–144.
- Liedberg C.F., Rausing A., Langeland P. (1970) Cyclophosphamide hemorrhagic cystitis. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 14, 183–190.
- Locher G.W., Cooper E.H. (1970) Repair of rat urinary bladder epithelium following injury by cyclophosphamide. *Invest. Urol.* 8, 116–123.
- Love R.R., Sowa J.M. (1975) Myelomonocytic leukaemia following cyclophosphamide therapy of rheumatoid disease. *Ann. Rheum. Dis.* 34, 534–535.
- Mader R.M., Kokalj A., Kratochvil E., Pilger A., Rüdiger H.W. (2008) Longitudinal biomonitoring of nurses handling antineoplastic drugs. *J. Clinical Nursing* 18, 263–269.

- Mahgoub N., Taylor B.R., Le Beau M.M., Gratiot M., Carlson K.M.* i wsp. (1999) Myeloid malignancies induced by alkylating agents in Nf1 mice. *Blood* 93, 3617–3623.
- Manny N., Rosenman E., Benbassat J.* (1972) Hazard of immunosuppressive therapy. *Br. Med. J.* 2 (5808), 291.
- Mansi C., Dodero M., Savarino V., Picciotto A., Civravegna G., Testa R., Celie G.* (1979) Toxic effects on mucosa of the oesophagus, stomach and colon and on the pancreas after chronic administration of azathioprine and cyclophosphamide to rats (Ital.). *Pathologica* 71, 235–241.
- Marazzini F., Macchi L.* (1966) Two normal pregnancies in patients receiving cytoxan for Hodgkin's disease. *Ann. Obstet. Ginecol.* 88, 825–834.
- Marks J.S., Scholtz C.L.* (1977) Sarcoma complicating therapy with cyclophosphamide. *Postgrad. Med. J.* 53, 48–49.
- Masala A., Faedda R., Alagna S., Satta A., Chiarelli G.* i wsp. (1997) Use of testosterone to prevent cyclophosphamide-induced azoospermia. *Ann. Intern. Med.* 126, 29–25.
- Matějková E.* (1975) The effects of combined administration of cytembena and cyclophosphamide on the blood count and morphology of nucleoli in peripheral-blood lymphocytes in patients with malignant tumors. *Neoplasma* 22, 45–54.
- McCarroll N., Keshava N., Cimino M., Chu M., Dearfield K.* i wsp. (2008) An evaluation of the mode of action framework for mutagenic carcinogens case study. *Cyclophosphamide. Environ. Mol. Mutagen.* 49, 117–131.
- McCarvill J.T., Lubet R.A., Schechtman L.M., Kouri R.E., Putman D.L.* (1990) Morphological transformation of BALB/3T3 cells by various procarcinogens in the presence of a rat liver S-9 activation system. *Environ. Mol. Mutagen.* 16, 304–310.
- McClain R.M., Keller D., Casciano D., Fu P., MacDonald J., Popp J.* i wsp. (2001) Neonatal mouse model: review of methods and results. *Toxicol. Pathol.* 29, 128–137.
- McClure H.M., Wilk A.L., Horigan E.A., Pratt R.M.* (1979) Induction of craniofacial malformations in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) with cyclophosphamide. *Cleft Palate J.* 16, 248–256.
- McDiarmid M.A., Iype P.T., Kolodner K., Jacobson-Kram D., Strickland P.T.* (1991) Evidence for acrolein-modified DNA in peripheral blood leukocytes of cancer patients treated with cyclophosphamide. *Mutat. Res.* 248, 93–99.
- McDiarmid M.A., Strickland P.T., Kolodner K., Hansen J., Jacobson-Kram D.* (1990) Baseline and phosphoramidate mustard-induced sister-chromatid exchanges in cancer patients treated with cyclophosphamide. *Mutat. Res.* 241, 273–278.
- Meistrich M.L., Wilson G., Brown B.W., da Cunha M.F., Lipshultz L.I.* (1992) Impact of cyclophosphamide on longterm reduction in sperm count in men treated with combination chemotherapy for Ewing and soft tissue sarcomas. *Cancer* 70, 270–312.
- Merger D., Tanguay C., Langlois E., Lefebvre M., Bussières J.F.* (2014) Multicenter study of environmental contamination with antineoplastic drugs in 33 Canadian hospitals. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 87(3), 307–313.
- Mertens R., Rubbert F., Büssing A.* (1995) Childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL): sister chromatid exchange (SCE) frequency and lymphocyte subpopulations during therapy. *Leukemia* 9, 501–505.
- Michaud D.S.* (2007) Chronic inflammation and bladder cancer. *Urol. Oncol.* 25, 260–268.
- Miller K.* (1991a) Sister-chromatid exchange in human B- and T-lymphocytes exposed to bleomycin, cyclophosphamide, and ethyl methanesulfonate. *Mutat. Res.* 247, 175–182.
- Miller K.* (1991b) Clastogenic effects of bleomycin, cyclophosphamide, and ethyl methanesulfonate on resting and proliferating human B- and T-lymphocytes. *Mutat. Res.* 251, 241–251.
- Monach P.A., Arnold L.M., Merkel P.A.* (2010) Incidence and prevention of bladder toxicity from cyclophosphamide in the treatment of rheumatic diseases. A Data-Driven Review. *Arthritis Rheum* 62(1), 9–21.
- Mills B.A., Roberts R.W.* (1979) Cyclophosphamide-induced cardiomyopathy. A report of two cases and review of the English literature. *Cancer* 43, 2223–2226.
- Mosienko V.S., Pivnyuk V.M.* (1968) Distribution of thio • TEPA and cyclophosphamide in rats and their renal excretion (Buss.). *Vrach. Delo* 8, 52–54 [Chem. Abstr. 70, 2014b].
- Morse C.C., Sigler C., Lock S., Hakkinen P.J., Haschek W.M., Witschi H.P.* (1985) Pulmonary toxicity of cyclophosphamide. A 1-year study. *Experim. Mol. Path.* 42(2), 251–260.
- Mougeot-Martin M., Krulik M., Harousseau J.L., Audebert A.A., Chaouat Y., Debray J.* (1978) Acute leukaemias arising in a case of Behcet's disease and

- a case of multiple sclerosis treated with immunosuppressors (Fr.). *Ann. Med. Intern. (Paris)* 129, 175–180.
- Mouridsen H.T., Faber O., Skovsted L.* (1974) The biotransformation of cyclophosphamide in man: analysis of the variation in normal subjects. *Acta Pharmacol.* 35, 98–106.
- Mouridsen H.T., Faber O., Skovsted L.* (1976) The metabolism of cyclophosphamide. Dose dependency and the effect of long-term treatment with cyclophosphamide. *Cancer* 37, 665–670.
- Mulvihill J.J., McKeen E.A., Rosner F., Zarrabi M.H.* (1987) Pregnancy outcome in cancer patients. Experience in a large cooperative group. *Cancer* 60(5), 1143–1150.
- Murthy V.V., Becker B.A., Steele W.J.* (1973) Effects of dosage, phenobarbital, and 2-diethylaminoethyl-2,2-diphenylvalerate on the binding of cyclophosphamide and/or its metabolites to the DNA, RNA, and protein of the embryo and liver in pregnant mice. *Cancer Res.* 33, 664–670.
- Natarajan A.T., Darroudi F.* (1991) Use of human hepatoma cells for in vitro metabolic activation of chemical mutagens/carcinogens. *Mutagenesis* 6, 399–403.
- Nawar N.N.Y., Sakla F.B., Mahran Z.Y.* (1979) Effects of maternal administration of Endoxan, vitamin A and vitamin B 12 on the development of the fetal spinal cord of the albino mouse. *Appl. Neurophysiol.* 42, 203–211.
- Nicholson H.O.* (1968) Leukaemia and pregnancy. A report of five cases and discussion of management. *J. Obstet. Gynaecol Br. Commonw* 75(5), 517–520.
- NIOSH (1990) National Occupational Exposure Survey (1981–83) National Institute for Occupational Safety and Health. Last updated: 7/1/90 [<http://www.cdc.gov/noes/noes1/x3688sic.html>].
- NIOSH (2012) List of antineoplastic and other hazardous drugs in healthcare settings. Department of Health and Human Services. Center for Disease Control and Prevention National Institute for Occupational Safety and Health.
- NTP (2011) Baza danych on-line [<http://ntp.niehs.nih.gov/go/roc12>].
- NTP (2013) NTP Monograph on developmental effects and pregnancy outcomes associated with cancer chemotherapy used during pregnancy. U.S., Department of Health and Human Services, Division of the National Toxicology Program.
- Opiolka S., Schmidt K. G., Kiffmeyer T., and Schöppe G.* (2000) Determination of the vapour pressure of cytotoxic drugs and its effects on occupational safety. Paper presented at The Seventh International Symposium on Oncology Pharmacy Practice. Prague, Czech Republic [cyt. za *Kromhout i wsp.* 2000].
- Pabst R., Wendler D.* (1976) Evaluation of chronic administration of drugs in teratology (Ger.). *Anat. Anz.* 140, 413–422.
- Paladini D., Vassallo M., D'Armiento M.R., Cianciaruso B., Martinelli P.* (2004) Prenatal detection of multiple fetal anomalies following inadvertent exposure to cyclophosphamide in the first trimester of pregnancy. *Birth Defects Res (Part A)* 70, 99–100.
- Palmer R.G., Smith-Burchnell C.A., Dore C.J., Denman A.M.* (1986) Thioguanine-resistant mutations induced by cytotoxic drugs in lymphocytes of patients with connective tissue diseases. *Br. J. Rheumatol.* 25, 376–379.
- Palmer R.G., Smith-Burchnell C.A., Pelton B.K., Hylton W., Denman A.M.* (1988) Use of T cell cloning to detect in vivo mutations induced by cyclophosphamide. *Arthritis Rheum.* 31, 757–761.
- Pan American Health Organization (2014) Occupational exposure to antineoplastic agent [<http://www.occupationalcancer.ca/wp-content/uploads/2014/07/Antineoplastics-and-cancer-ENG.pdf>].
- Paolini M., Sapigni E., Hrelia P., Scotti M., Morotti M., Cantelli-Forti G.* (1991) Wide spectrum detection of precarcinogens in short-term bioassays by simultaneous superinduction of multiple forms of cytochrome P450 isoenzymes. *Carcinogenesis* 12, 759–766.
- Paskulin G.A., Ricardo P., Zen G., de Camargo Pinto L.L., Rosa R., Graziadio C.* (2005) Combined chemotherapy and teratogenicity. *Birth. Defects. Research (Part A)* 73(9), 634–637.
- Patel A.R., Shah P.C., Rhee H.L., Sassoon H., Rao K.P.* (1976) Cyclophosphamide therapy and interstitial pulmonary fibrosis. *Cancer* 38, 1542–1549.
- Pedersen-Bjergaard J., Ersboll J., Hansen V.L., Sorensen B.L., Christoffersen K., Hou-Jensen K.* i wsp. (1988) Carcinoma of the urinary bladder after treatment with cyclophosphamide for non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 318, 1028–32.
- Penso J., Lippe B., Ehrlich R., Smith F.G. Jr.* (1974) Testicular function in prepubertal and pubertal male patients treated with cyclophosphamide for nephrotic syndrome. *J. Pediatr.* 84, 831–836.
- Petru E., Berger M.R., Schmähl D.* (1989) Long-term carcinogenicity of cyclophosphamide in two

- mouse strains with different spontaneous leukemia incidence. *Cancer Lett* 44, 221–226.
- Philips F.S., Sternberg S.S., Cronin A.P., Vidal P.M.* (1961) Cyclophosphamide and urinary bladder toxicity. *Cancer Res.* 21, 1577–1589.
- Pizzuto J., Aviles A., Noriega L., Niz J., Morales M., Romero F.* (1980) Treatment of acute leukemia during pregnancy: presentation of nine cases. *Cancer Treat. Rep.* 64(4-5), 679–83.
- Plotz P.H., Klippel J.H., Decker J.L., Grauman D., Wolff B., Brown B.C., Rutt G.* (1979) Bladder complications in patients receiving cyclophosphamide for systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis. *Ann. Intern. Med.* 91, 221–223.
- Potturi B.R., Singh S., Sanyal A.K.* (1975) Ossification patterns of sternum in rat fetuses after maternal administration of cyclophosphamide. *Congenital Anomalies* 15, 99–106.
- Povirk L.F., Shuker D.E.* (1994) DNA damage and mutagenesis induced by nitrogen mustards. *Mutat. Res.* 318, 205–226.
- Pucci E., Matozzo F., Luppi P., Micoli G., Sottani C., Minoia C., Sandrini G., Nappi G.* (2005) Headache as a „sentinel” symptom in personnel involved in the preparation and administration of antineoplastic drugs. *G. Ital. Med. Lav. Ergon.* 27(4), 412–416.
- Radis C.D., Kahl L.E., Baker G.L., Wasko M.C., Cash J.M., Gallatin A.* i wsp. (1995) Effects of cyclophosphamide on the development of malignancy and on long-term survival of patients with rheumatoid arthritis: a 20-year followup study. *Arthritis Rheum.* 38, 1120–7.
- Ramphal R., Bains T., Vaillancourt R.* i wsp. (2014) Occupational exposure to cyclophosphamide in nurses at a single center. *JOEM* 56(3), 304–312.
- Raport z działalności konsultanta krajowego w dziedzinie pielęgniarstwa onkologicznego w 2010 roku [http://www2.mz.gov.pl/wwwfiles/ma_struktura/docs/raport_piel_6_26042011.pdf].
- Raposa T., Várkonyi J.* (1987) The relationship between sister chromatid exchange induction and leukemogenicity of different cytostatics. *Cancer Detect Prev* 10, 141–151.
- Reinhold-Keller E., Beuge N., Latza U., de Groot K., Rudert H., Nolle B.* i wsp. (2000) An interdisciplinary approach to the care of patients with Wegener’s granulomatosis: long-term outcome in 155 patients. *Arthritis Rheum* 43, 1021–32.
- Rekhadevi P.V., Sailaja N., Chandrasekhar M., Mahboob M., Rahman M.F., Grover P.* (2007) Genotoxicity assessment in oncology nurses handling anti-neoplastic drugs. *Mutagenesis* 22, 395–401.
- Reynoso E.E., Shepherd F.A., Messner H.A., Farquharson H.A., Garvey M.B., Baker M.A.* (1987) Acute leukemia during pregnancy: the Toronto Leukemia Study Group experience with long-term follow-up of children exposed in utero to chemotherapeutic agents. *J. Clin. Oncol.* 5(7), 1098–1106.
- Ridola V., Fawaz O., Aubier F., Bergeron C., de Vathaire F., Pichon F., Orbach D., Gentet J.C., Schmitt C., Dufour C., Oberlin O.* (2009) Testicular function of survivors of childhood cancer: a comparative study between ifosfamide and cyclophosphamidebased regimens. *Eur. J. Cancer* 45(5), 814–8.
- Roberts M.M., Bell R.* (1976) Acute leukaemia after immunosuppressive therapy. *Lancet* 308 (7989), 768–770.
- Roberts J.J., Brent T.P., Crathorn A.R.* (1968) The mechanism of the cytotoxic action of alkylating agents on mammalian cells [W:] *The Interaction of drugs and subcellular components in animal cells.* London, Churchill 5–27 [cyt. za IARC 1981].
- Roscher E., Wiebel F.J.* (1988) Mutagenicity, clastogenicity and cytotoxicity of procarcinogens in a rat hepatoma cell line competent for xenobiotic metabolism. *Mutagenesis* 3, 269–276.
- Roschlau G., Justus J.* (1971) Carcinogenic effect of methotrexate and cyclophosphamide in animal experiment. *Dtsch Gesundheitsw* 26, 219–222.
- Rozporządzenie ministra zdrowia i opieki społecznej z dnia 11.09.1996 r. w sprawie czynników rakotwórczych w środowisku pracy oraz nadzoru nad stanem zdrowia pracowników. DzU nr 121, poz. 571.
- Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 1.12.2004 r. w sprawie substancji, preparatów, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy. DzU nr 280, poz. 2771.
- Rozporządzenie ministra zdrowia z dnia 24.07.2012 r. w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy. DzU nr 147, poz. 890.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin (CLP), zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

- Dz. Urz. WE L 353/2 z 31 grudnia 2008 r., z późn. zm.
- RTECS (2014) Baza danych on-line [<http://csi.micromedex.com/>].
- Rubes J., Kucharová S., Vozdová M., Musilová P., Zudová Z. (1998) Cytogenetic analysis of peripheral lymphocytes in medical personnel by means of FISH. *Mutat. Res.* 412, 293–298.
- Sabatini L., Barbieri A., Lodi V., Violante F.S. (2012) Biological monitoring of occupational exposure to antineoplastic drugs in hospital settings. *Med. Lav.* 103(5), 394–401.
- Sakata T., Smith R.A., Garland E.M., Cohen S.M. (1989) Rat urinary bladder epithelial lesions induced by acrolein. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 9, 159–169.
- Sanderson B.J., Johnson K.J., Henner W.D. (2001) Induction of mutant lymphocytes in cyclophosphamide- and chlorambucil-treated patients. *Mutagenesis* 16, 197–202.
- Sardaş S., Erdoğan F., Sardaş O.S., Cengel M., Karakaya A.E. (1994) Sister chromatid exchange studies for monitoring DNA damage in lymphocytes of malignant lymphoma patients under cytostatic therapy. *Anticancer Drugs* 5, 487–489.
- Sargent E.V., Naumann B.D., Dolan D.G., Faria E.C., Schulman L. (2002) The importance of human data in the establishment of Occupational Exposure Limits. *Hum. Ecol. Risk Assess* 8(4), 805–822.
- Schardein J.L. (2000) *Chemically Induced Birth Defects*. 3rd ed., Marcel Dekker, Inc. New York and Basel 585 [cyt. za REPROTOX 2014].
- Schaumloffel E., Clausnitzer M., Kreyling H. (1975) Radiochromatographic investigation on the metabolism of 3 H-cyclophosphamide in sheep (Ger.). *Arzneimittel-Forsch./Drug. Res.* 25, 1385–1392.
- Schmähl D. (1967) Carcinogenic action of cyclophosphamide and triaziquone in rats. *Dtsch. Med. Wochenschr* 92, 1150–1152.
- Schmähl D. (1974) Investigations on the influence of immunodepressive means on the chemical carcinogenesis in rats. *Z Krebsforsch Klin. Onkol. Cancer Res. Clin. Oncol.* 81, 211–215.
- Schmähl D., Habs M.R. (1979) Carcinogenic action of low-dose cyclophosphamide given orally to Sprague-Dawley rats in a lifetime experiment. *Int. J. Cancer* 23, 706–712.
- Schmähl D., Habs M.R. (1983) Prevention of cyclophosphamide-induced carcinogenesis in the urinary bladder of rats by administration of mesna. *Cancer Treat. Rev.* 10, A57–61.
- Schmähl D., Osswald H. (1970) Experimental studies on the carcinogenic effects of anticancer chemotherapeutics and immunosuppressive agents. *Arzneimittelforschung* 20, 1461–1467.
- Schmidt W., Kreuz R., Wendler D., Gabler W. (1977) Production of skeletal defects after administration of aminoacetonitrile and cyclophosphamide during fetogenesis in rats (Ger.). *Verh. Anat. Ges.* 71, 635–638.
- Schmitz R., Busch W., von Kreybig T. (1972) Chemically produced malformations of the jaws in animal experiments. I. Action of cyclophosphamide and 6-mercaptopurine on embryonal and fetal development of rats. *Dtsch. Zahnheilkd. Mundheilkd. Kieferheilkd.* 59, 385–398.
- Seidenfeld A.M., Smythe H.A., Ogryzlo M.A., Urowitz M.B., Dotten D.A. (1976) Acute leukemia in rheumatoid arthritis treated with cytotoxic agents. *J. Rheumatol.* 3, 295–304.
- Selevan S.G., Undbohm M.L., Hornung R.W., Hemminki K. (1985) A study of occupational exposure to antineoplastic drugs and fetal loss in nurses. *N. Engl. J. Med.* 313, 117–138.
- Sessink P.J., Anzion R.B., van den Broek P.H.H., Bos R.B. (1992) Detection of contamination with antineoplastic agents in a hospital pharmacy department. *Pharm. Weekbl. [Sci]* 14(1), 16–22.
- Sessink P.J., van den Broek P.H.H., Bos R.P. (1991) Urinary cyclophosphamide excretion in rats after intratracheal, dermal, oral and intravenous administration of cyclophosphamide. *J. Appl. Toxicol.* 11, 125–128.
- Sessink P.J., Cerná M., Rössner P., Pastorková A., Bavarová H., Franková K., Anzion R.B., Bos R.P. (1994) Urinary cyclophosphamide excretion and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes after occupational exposure to antineoplastic agents. *Mutat. Res.* 309, 193–199.
- Sessink P.J.M., Kroese E.D., van Kranen H.J. (1995) Cancer risk assessment for health care workers occupationally exposed to cyclophosphamide. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 67, 317–323.
- Sessink P.J., van de Kerckhof M.C.A., Anzion R.B.M., Noordhoek J., Bos R.B. (1994) Environmental contamination and assessment of exposure to antineoplastic agents by determination of cyclophosphamide in urine of exposed pharmacy technicians. Is Skin Absorption an Important Route? *Arch. Environ. Health* 49(3), 163–169.
- Sessink P.J., Wittenhorst B.C.J., Anzion R.B.M., Bos R.B. (1997) Exposure of pharmacy technicians

- to antineoplastic agents. Reevaluation after Additional Protective Measures. *Arch. Environ. Health* 52(3), 240–244.
- Shah P.C., Rao K.R.P., Patel A.R.* (1975) Cyclophosphamide-induced nail pigmentation. *Lancet* 306 (7934), 548–549.
- Sharon N., Neumann Y., Kenet G., Schachter J., Rechavi G., Toren A.* (2001) Successful pregnancy after highdose cyclophosphamide and ifosfamide treatment in two postpubertal women. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 18, 247–52.
- Sheibani K., Bukowski R.M., Tubbs R.R., Savage R.A., Sebek B.A., Hoffman G.C.* (1980) Acute non lymphocytic leukemia in patients receiving chemotherapy for nonmalignant diseases. *Hum. Pathol.* 11, 175–179.
- Shimkin M.B., Weisburger J.H., Weisburger E.K., Gubnareff N., Sontzeff V.* (1966) Bioassay of 29 alkylating chemicals by the pulmonary-tumor response in strain A Mice. *J. Natl. Cancer. Inst.* 36, 915–935.
- Sieniawski M., Reineke T., Nogova L., Josting A., Pfistner B., Diehl V., Engert A.* (2008) Fertility in male patients with advanced Hodgkin lymphoma treated with BEACOPP: a report of the German Hodgkin Study Group (GHSG). *Blood* 111(1), 716.
- Silver R.M., Warrick J.H., Kinsella M.B., Staudt L.S., Baumann M.H., Strange C.* (1993) Cyclophosphamide and low-dose prednisone therapy in patients with systemic sclerosis (scleroderma) with interstitial lung disease. *J. Rheumatol.* 20, 838–44.
- Singh S.* (1971) The teratogenicity of cyclophosphamide (Endoxan-asta) in rats. *Indian J. Med. Res.* 59, 1128–1135.
- Singh S., Sanyal A.K.* (1976) Eye anomalies induced by cyclophosphamide in rat fetuses. *Acta anat.* 94, 490–496.
- Singh S., Singh M.* (1975) Histochemical changes in the malformed forelimbs of rat fetuses induced by cyclophosphamide. *J. Anat. Soc. India* 24, 53–59.
- Skowroń J., Czerczak S.* (2013) Zasady ustalania dopuszczalnych poziomów narażenia dla czynników rakotwórczych w środowisku pracy w Polsce i w krajach Unii Europejskiej. *Med. Pracy* 64 (4), 541–563.
- Sladek N.E.* (1971) Metabolism of cyclophosphamide by rat hepatic microsomes. *Cancer Res.* 31, 901–908.
- Smith R.E., Bryant J., DeCillis A., Anderson S.* (2003) Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after doxorubicin-cyclophosphamide adjuvant therapy for operable breast cancer: the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Experience. *J. Clin. Oncol.* 21, 1195–1204.
- Soler-Niedziela L., Ong T., Krishna G., Petersen M., Nath J.* (1989). Sisterchromatid exchange studies on direct- and indirectacting clastogens in mouse primary cell cultures. *Mutat. Res.* 224, 465–470.
- Sorsa M., Pyy L., Salomaa S., Nylund L., Yager J.W.* (1988) Biological and environmental monitoring of occupational exposure in industry and hospitals. *Mutat. Res.* 204, 465–479.
- Souliotis V.L., Dimopoulos M.A., Sfrikakis P.P.* (2003) Genespecific formation and repair of DNA monoadducts and interstrand cross-links after therapeutic exposure to nitrogen mustards. *Clin. Cancer Res.* 9, 4465–4474.
- Spielmann H., Eibs H.G.* (1978) Recent progress in teratology. A survey of methods for the study of drug actions during the preimplantation period. *Arzneimittel-Forsch./Drug Res.* 28, 1733–1742.
- Spielmann H., Eibs H.G., Merker H.J.* (1977) Effects of cyclophosphamide treatment before implantation on the development of rat embryos after implantation. *J. Embryol. Expo. Morphol.* 41, 65–78.
- Starzl T.E., Groth C.G., Putnam C.W., Corman J., Halgrimson C.G., Penn I., Husberg B., Gustafsson A., Cascardo S., Geis P., Iwatsuki S.* (1973) Cyclophosphamide for clinical renal and hepatic transplantation. *Transplant. Proc.* 5, 511–516.
- State of California (1993) Safe Drinking Water and Toxic Enforcement Act of 1986 (Proposition 65). No Significant Risk Levels for Carcinogens and Acceptable Intake Levels for Reproductive Toxicants (Status Report). 22 Cal. Code of Reg. Section 12705(d). August.
- Steele T.H., Serpick A.A., Block J.B.* (1973) Antidiuretic response to cyclophosphamide in man. *J. Pharmacol. Expo Ther.* 185, 245–253.
- Stekar J.* (1973) Teratogenicity of cyclophosphamide in newborn rats. *Arzneimittel-Forsch./Drug Res.* 23, 922–923.
- Stillwell T.J., Benson R.C. Jr., DeRemee R.A., McDonald T.J., Weiland L.H.* (1988) Cyclophosphamide-induced bladder toxicity in Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum* 31, 465–70.
- Stoichkova N., Damyanov B., Astarzhieva Z.* (1979) Ultrastructural changes in the liver of Yoshida tumour rats exposed to cyclophosphamide (Russ.). *Vop. Onkol.* 25, 88–92.

- Stott H., Fox W., Girting D.J., Stephens R.J., Galton D.A.G. (1977) Acute leukaemia after busulphan. *Br. Med. J.* 2, 1513–1517.
- Struck R.F. (1974) Isolation and identification of a stabilized derivative of aldophosphamide, a major metabolite of cyclophosphamide. *Cancer Res.* 34, 2933–2935.
- Struck R.F., Laster W.R. Jr. (1975) Cyclophosphamide (CPA) metabolites in mouse blood (Abstract no. 70). *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 16, 18.
- Symington G.R., Mackay I.R., Lambert R.P. (1977) Cancer and teratogenesis: infrequent occurrence after medical use of immunosuppressive drugs. *Aust. N. Z. J. Med.* 7, 368–372.
- Talar-Williams C., Hijazi Y.M., Walther M.M., Linehan W.M., Hallahan C.W., Lubensky I. i wsp. (1996) Cyclophosphamide-induced cystitis and bladder cancer in patients with Wegener granulomatosis. *Ann. Intern. Med.* 124, 477–84.
- Talha M.R.Z., Rogers H.J., Trounce J.R. (1980) Distribution and pharmacokinetics of cyclophosphamide in the rat. *Br. J. Cancer* 41, 140–143.
- Tanimura M., Yamada K., Sugiura S., Mori K., Nagata H., Tadokoro K., Miyake T., Hamaguchi Y., Sessink P., Nabeshima T. (2009) An environmental and biological study of occupational exposure to cyclophosphamide in the pharmacy of a Japanese Community Hospital Designated to Treatment of Cancer. *J. Health Science* 55(5), 750–756.
- Tannenbaum H., Schur P.H. (1974) Development of reticulum cell sarcoma during cyclophosphamide therapy. *Arthritis Rheum.* 17, 15–18.
- Tates A.D., van Dam F.J., Natarajan A.T., Zwinderman A.H., Osanto S. (1994) Frequencies of HPRT mutants and micronuclei in lymphocytes of cancer patients under chemotherapy: a prospective study. *Mutat. Res.* 307, 293–306 [cyt. za IARC 2011].
- Tchernia G., Mielot F., Subtil E., Parmentier C. (1976) Acute myeloblastic leukemia after immunedepressive therapy for primary nonmalignant disease. *Blood Cells* 2, 67–80.
- Te C., Gentile J.M., Baguley B.C., Pearson A.E., Gregory T., Ferguson L.R. (1997) In vivo effects of chlorophyllin on the antitumour agent cyclophosphamide. *Int. J. Cancer* 70, 84–89 [cyt. za IARC 2011].
- Tokuoka S. (1965) Induction of tumor in mice with *N,N*-bis(2-chloroethyl)-*N'*,*O*-propylenephosphoric acid ester diamide (cyclophosphamide). *Gann* 56, 537–541.
- Toledo T.M., Harper R.C., Moser R.H. (1971) Fetal effects during cyclophosphamide and irradiation therapy. *Ann. intern. Med.* 74, 87–91.
- Torkelson A.R., LaBudde J.A., Weikel J.H. Jr. (1974) The metabolic fate of cyclophosphamide. *Drug. Metab. Rev.* 3, 131–165.
- Townes A.S., Sowa J.M., Shulman L.E. (1976) Controlled trial of cyclophosphamide in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 19, 563–73.
- Trasler J.M., Hales B.F., Robaire B. (1985) Paternal cyclophosphamide treatment of rats causes fetal loss and malformations without affecting male fertility. *Nature* 316, 1441–46.
- Travis L.B., Curtis R.E., Glimelius B., Holowaty E.J., van Leeuwen F.E., Lynch C.F. i wsp. (1995) Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 87(7), 524–530.
- Trenz K., Lugowski S., Jahrsdörfer U. (2003) Enhanced sensitivity of peripheral blood lymphocytes from women carrying a BRCA1 mutation towards the mutagenic effects of various cytostatics. *Mutat Res.* 544, 279–288; doi:10.1016/j.mrrev.2003.06.011 PMID:14644329 [cyt. za IARC 2011].
- Tsutsui T.W., Inaba T., Fisher L.W., Robey P.G., Tsutsui T. (2006) In vitro chromosome aberration tests using human dental pulp cells to detect the carcinogenic potential of chemical agents. *Odontology* 94, 44–50 [cyt. za IARC 2011].
- Turchi G., Nardone A., Palitti F. (1992) Application of an epithelial liver cell line, metabolically competent, for mutation studies of promutagens. *Mutat. Res.* 271, 79–88.
- Turci R., Sottani C., Ronchi A., Minoia C. (2002) Biological monitoring of hospital personnel occupationally exposed to antineoplastic drugs. *Toxicology Letters* 134, 57–64.
- Turci R., Minoia C., Sottani C., Coghi R., Severi P., Castriotta C., Del Bianco M., Imbriani M. (2010) Occupational exposure to antineoplastic drugs in seven Italian hospitals. The effect of quality assurance and adherence to guidelines. *J. Oncol. Pharm. Practice* 17(4), 320–332.
- Uldall P.R., Kerr D.N.S., Tacchi D. (1972) Sterility and cyclophosphamide. *Lancet* 1, 693–694.
- Ujhazy E., Prelnerova M., Jozefik M. (1979) Effects of cyclophosphamide on the prenatal development of the Swiss strain mice. *Neoplasma* 26, 529–537.
- Valanis B.G., Vollmer W.M., Labuhn K.T., Glass A.G. (1993) Association of antineoplastic drug handling with acute adverse effects in pharmacy personnel. *Am. J. Hosp. Pharm.* 50(3), 455–462.

- Vaux K.K., Kahole N.C., Jones K.L. (2003) Cyclophosphamide, methotrexate, and cytarabine embryopathy: is apoptosis the common pathway? *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 67(6), 403–408.
- Voelcker G., Wagner T., Hohorst H.J. (1976) Identification and pharmacokinetics of cyclophosphamide (NSC-26271) metabolites in vivo. *Cancer Treat. Rep.* 60, 415–422.
- Wagner T., Heydrich D., Voelcker G., Hohorst H.J. (1980) Blood level and urinary excretion of activated cyclophosphamide and its deactivation products in man (Ger.) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 96, 79–92.
- Walker S.E., Anver M.R. (1979) Accelerated appearance of neoplasms in female NZB/NZW mice treated with high-dose cyclophosphamide. *Arthritis Rheum.* 22, 1338–1343.
- Walker S.E., Anver M.R. (1983) High incidence of neoplasms in female NZB/NZW mice treated with pulse doses of cyclophosphamide. *Vet Immunol Immunopathol* 5, 97–104.
- Walker S.E., Bole G.G. (1971) Augmented incidence of neoplasia in female New Zealand black-New Zealand white (NZB-NZW) mice treated with long-term cyclophosphamide. *J. Lab. Clin. Med.* 78, 978–979.
- Walker S.E., Bole G.G. Jr. (1973) Augmented incidence of neoplasia in NZB-NZW mice treated with long-term cyclophosphamide. *J. Lab. Clin. Med.* 82, 619–633.
- Watson A.R., Rance C.P., Bain J. (1985) Long term effects of cyclophosphamide on testicular function. *Br. Med. J.* 291, 14571–460.
- Weisburger J.H., Griswold D.P., Prejean J.D., Casey A.E., Wood H.B., Weisburger E.K. (1975) The carcinogenic properties of some of the principal drugs used in clinical cancer chemotherapy. *Recent Results. Cancer Res.* 52, 1–17.
- de Werk Neal A., Wadden R.A., Chiou W.L. (1983) Exposure of Hospital Workers to Airborne Antineoplastic Agents. *Am. J. Hosp. Pharm.* 40, 597–601.
- Westman K.W., Bygren P.G., Olsson H., Ranstam J., Wieslander J. (1998) Relapse rate, renal survival, and cancer morbidity in patients with Wegener's granulomatosis or microscopic polyangiitis with renal involvement. *J. Am. Soc. Nephrol.* 9, 842–52.
- Wheeler G.P. (1962) Studies related to the mechanisms of action of cytotoxic alkylating agents: a review. *Cancer Res.* 22, 651–688.
- Wheeler A.G., Dansby D., Hawkins H.C., Payne H.G., Weikel J.H. Jr. (1962) A toxicologic and hematologic evaluation of cyclophosphamide (Cytosan®) in experimental animals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 4, 324–343.
- Wiernik P.H., Duncan J.H. (1971) Cyclophosphamide in human milk. *Lancet* 1, 912.
- Willson J.K.V. (1978) Pulmonary toxicity of antineoplastic drugs. *Cancer Treat. Rep.* 62, 2003–2008.
- Wilmer J.L., Erexson G.L., Kligerman A.D. (1990) Effect of acrolein on phosphoramidate mustard-induced sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Cancer Res.* 50, 4635–4638.
- Winckler K., Obe G., Madle S., Kocher-Becker U., Kocher W., Nau H. (1987) Cyclophosphamide: interstrain differences in the production of mutagenic metabolites by S9-fractions from liver and kidney in different mutagenicity test systems in vitro and in the teratogenic response in vivo between CBA and C57 BL mice. *Teratog. Carcinog. Mutagen* 7, 399–409.
- Worledge S.M., Brain M.C., Cooper A.C., Hobbs J.R., Dacie J.V. (1968) Immunosuppressive drugs in the treatment of autoimmune haemolytic anaemia. *Proc. R. Soc. Med.*, 61, 1312–1315.
- Yager J.W., Sorsa M., Selvin S. (1988) Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes as an index of occupational exposure to alkylating cytostatic drugs. *IARC Sci. Publ.* (89), 213–216.
- Yamamoto S., Mitsumori K., Kodama Y., Matsumura N., Manabe S., Hayashi Y. (1996) Rapid induction of more malignant tumors by various genotoxic carcinogens in transgenic mice harboring a human prototype c-Ha-ras gene than in control non-transgenic mice. *Carcinogenesis* 17, 2455–2461.
- Yoshinaka A., Fukasawa I., Sakamoto T., Tanaka M., Ota Y., Inaba N. (2000) The fertility and pregnancy outcomes of the patients who underwent preservative operation followed by adjuvant chemotherapy for malignant ovarian tumors. *Arch. Gynecol. Obstet.* 264, 124–7.

- Zemlickis D., Lishner M., Erlich R., Koren G. (1993) Teratogenicity and carcinogenicity in a twin exposed in utero to cyclophosphamide. *Teratogenesis Carcinog Mutagen* 13, 139–43.
- Ziegler E., Mason H.J., Baxter P.J. (2002) Occupational exposure to cytotoxic drugs in two UK oncology wards. *Occup. Environ. Med.* 59, 608–612.
- Zijlstra J.A., Vogel E.W. (1989) Influence of metabolic factors on the mutagenic effectiveness of cyclophosphamide in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 210, 79–92.
- Zúñiga G., Torres-Bugarín O., Ramírez-Muñoz M.P., Delgado-Lamas R., De Loza-Saldaña J.M., Cantú J.M. (1996) Micronucleated erythrocytes in splenectomized patients with and without chemotherapy. *Mutat. Res.* 361, 107–112.