



Małgorzata Kupczewska-Dobecka

METOTREKSAT – GENOTOKSYCZNY I TERATOGENNY DLA PERSONELU MEDYCZNEGO ONKOLOGICZNYCH ODDZIAŁÓW SZPITALNYCH?

METHOTREXATE – GENOTOXIC AND TERATOGENIC FOR MEDICAL STAFF OF ONCOLOGY WARDS?

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera / Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland
Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego / Department of Chemical Safety

STRESZCZENIE

Jednym z najczęściej stosowanych leków cytostatycznych jest metotreksat (MTX) należący do antagonistów kwasu foliowego. Jest to substancja w Unii Europejskiej niezaklasyfikowana jako rakotwórcza, a Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer – IARC) oceniła, że nie ma dowodów na jej oddziaływanie rakotwórcze u ludzi i zwierząt. Mimo to MTX znalazł się na listach leków niebezpiecznych stosowanych w chemioterapii, głównie ze względu na właściwości genotoksyczne oraz działanie teratogenne, powodowanie toksyczności rozwojowej i szkodliwy wpływ na rozrodczość. Metotreksat wykryto w powietrzu oddziału szpitalnego podczas przygotowywania leku, na poziomie $0,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$, a także na rękawicach ochronnych oraz czyszczonych powierzchniach pokoi przygotowawczych. Stężenie MTX na polietylenowym pokryciu wyciągu wentylacyjnego wynosiło $645 \mu\text{g}/\text{m}^2$. W większości prowadzonych projektów badawczych zidentyfikowano MTX w moczu pracowników opieki medycznej, farmaceutów i personelu pielęgniarskiego, a także pracowników służby zdrowia, którzy byli narażeni w wyniku wtórnego zanieczyszczenia powierzchni roboczych, odzieży czy pojemników. Najwyższe skumulowane stężenie MTX w 112 próbkach moczu wynosiło $1416 \mu\text{g}$ u pracowników podłączających i przygotowujących wlewy u pacjentów. Badania przeprowadzone w aptekach wykazały obecność MTX w 60% pobranych prób, a jego maksymalne stężenie wynosiło $15 \text{ ng}/\text{cm}^2$ powierzchni tacy do odliczania tabletek. Dotychczas nie zostały ustalone obowiązujące prawnie wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń (NDS) metotreksatu w środowisku pracy. Dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego niektórzy producenci MTX ustalili w granicach $0,0003\text{--}0,0025 \text{ mg}/\text{m}^3$. Nagłącą potrzebą jest ustalenie wartości normatywnych. Należy podkreślić, że substancja wchłania się przez skórę, co może istotnie zwiększać narażenie, a pomiar jej stężenia w środowisku pracy może nie wystarczać do oszacowania rzeczywistego narażenia. Med. Pr. 2015;66(2):265–275

Słowa kluczowe: metotreksat, narażenie zawodowe, cytostatyki, najwyższe dopuszczalne stężenie

ABSTRACT

Methotrexate (MTX) is one of the most widely used cytostatic drugs belonging to the folic acid antagonists. It is a substance non-classified as a carcinogen in the European Union and by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as there is no evidence of its carcinogenicity to humans and animals. Nevertheless, MTX has been placed on the list of dangerous drugs used in chemotherapy, mainly due to genotoxic and teratogenic effects, causing developmental toxicity and reproductive toxicity. Methotrexate was determined in the hospital ward air during the preparation of a medicament at a level of $0.3 \text{ mg}/\text{m}^3$, as well as on protective gloves and preparatory room surfaces. In most research projects MTX was identified in the urine of health care workers, pharmacists and nursing staff. The highest cumulative concentration of MTX in 112 urine samples was 1416 mg in workers preparing infusions for patients. Studies carried out in pharmacies revealed the presence of MTX in 60% of tests, and the maximum concentration of $15 \text{ ng}/\text{cm}^2$ surface of the tray to count tablets. Legal exposure limit values for MTX in the work environment have not yet been established. Occupational exposure limits have been established by some manufacturers at the level of $0.0003\text{--}0.0025 \text{ mg}/\text{m}^3$. There is an urgent need to establish normative values. It should also be emphasized that MTX is absorbed through the skin, which may significantly increase the exposure and measuring its concentration in the work environment may not be sufficient to estimate the actual exposure. Med Pr 2015;66(2):265–275

Key words: methotrexate, professional exposure, antineoplastic drugs, occupational exposure limit

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Małgorzata Kupczewska-Dobecka, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego, ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: dobecka@imp.lodz.pl
Nadesłano: 16 września 2014, zatwierdzono: 12 lutego 2015

Finansowanie / Funding: praca przygotowana na podstawie wyników III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014–2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy. Projekt II.P.08 „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia”. Kierownik projektu: prof. dr hab. Sławomir Czerczak.

WSTĘP

Wzrost zainteresowania oceną narażenia zawodowego personelu medycznego na cytostatyki miał miejsce w ubiegłym dziesięcioleciu. Zauważono, że leki przeciwnowotworowe powodują rozwój wtórnych nowotworów u pacjentów uprzednio leczonych onkologicznie, co mogłoby wskazywać na niebezpieczeństwo rozwoju nowotworów również wśród osób zawodowo narażonych na wieloletni kontakt z cytostatykami. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer – IARC) [1] m.in. takie leki przeciwnowotworowe, jak imuran, busulfan, chlorambucil, cyklofosfamid zaliczyła do grupy pierwszej – substancji rakotwórczych dla człowieka, w których przypadku istnieje wystarczający dowód działania rakotwórczego u ludzi.

Jednym z najczęściej stosowanych leków cytostatycznych jest należący do antagonistów kwasu foliowego metotreksat (methotrexate – MTX), który w Unii Europejskiej nie został zaklasyfikowany jako rakotwórczy, a IARC oceniła, że nie ma dowodów na jego działanie rakotwórcze u ludzi i zwierząt. Na 13. posiedzeniu Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej VII kadencji w 2012 r. sekretarz stanu w Ministerstwie Zdrowia poinformował, że średnie miesięczne zużycie metotreksatu wynosiło 927 000 mg (w porównaniu z np. 484 000 mg dokso-rubicyny). Wśród chorych leczonych metotreksatem nie uzyskano jednoznacznych dowodów potwierdzających występowanie u nich zwiększonego ryzyka nowotworów. Metotreksat nie działał rakotwórczo także w przewlekłych badaniach na zwierzętach. Opisano pojedyncze przypadki nowotworów skóry u pacjentów leczonych metotreksatem w przebiegu łuszczycy, takie jak pojawienie się raka podstawnokomórkowego, raka płaskonabłonkowego i włókniakomięsaka guzowatego [2].

W badaniu epidemiologicznym 205 pacjentów z łuszczycą, leczonych metotreksatem bez innych leków cytotoksycznych przez co najmniej 7 lat, stwierdzono 3 zgony z powodu raka w porównaniu z oczekiwanymi 3,39 i 1 zgon z powodu białaczki w porównaniu z oczekiwanymi 0,13 oraz 8 przypadków nowotworów złośliwych (z wyjątkiem nowotworów skóry) w porównaniu z oczekiwanymi 6,80 [2]. Przeprowadzane obserwacje wskazują na występowanie większego ryzyka rozwoju nowotworów wtórnych, jednak nie ma wystarczających dowodów pozwalających sformułować ostateczne wnioski.

Mimo to metotreksat znalazł się na sporządzanych przez różne organizacje – np. Amerykańskie

Stowarzyszenie Farmaceutów (American Society of Health-System Pharmacists – ASHP), Międzynarodowe Stowarzyszenie Farmaceutów Producentów (The International Academy of Compounding Pharmacists – IACP) czy Narodowy Instytut Zdrowia i Bezpieczeństwa Stanów Zjednoczonych (National Institute of Occupational Safety and Health – NIOSH) – listach leków niebezpiecznych stosowanych w chemioterapii głównie ze względu na właściwości genotoksyczne oraz działanie teratogenne, powodowanie toksyczności rozwojowej i szkodliwy wpływ na rozrodczość. Według NIOSH [3] definicja leków niebezpiecznych obejmuje leki, które zawierają substancje wykazujące u ludzi lub zwierząt przynajmniej 1 z 6 następujących cech – działają rakotwórczo, teratogenicznie lub powodują toksyczność rozwojową, wpływają szkodliwie na rozrodczość, oddziałują toksycznie na narządy w małych dawkach (np. kilka miligramów lub mniej) i genotoksycznie.

Metotreksat (CAS:59-05-2) – nazwa chemiczna według Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (The International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC) to kwas (S)-2-(4-{{(2,4-diaminopterydyn-6-ylo)metylo}metyloamino}benzamido)pentanodiowy – jest pochodną aminopteryny i strukturalnym analogiem kwasu foliowego. To słaby kwas organiczny dwukarboksylowy. W temperaturze pokojowej związek jest ciałem stałym i występuje w formie jasnożółtopomarańczowego, krystalicznego proszku o lekkim zapachu charakterystycznym dla związków aromatycznych, o temperaturze topnienia 185–204°C (monohydrat) i prężności pary < 0,0000001 kPa w temperaturze 25°C [4]. Jest praktycznie nierozpuszczalny w wodzie (< 1 g/l w temp. 19°C).

Efektywne dawki metotreksatu jako leku zależą od wskazań i są zróżnicowane. Metotreksat w wysokich dawkach jest stosowany w leczeniu onkologicznym, a w dawkach wynoszących zwykle 10–25 mg na tydzień (tzw. terapia low-dose) także w leczeniu ciężkich postaci łuszczycy oraz aktywnych zapalnie postaci chorób reumatoidalnych. Lek może być podawany doustnie, we wlewie dożylnym, domięśniowo, dokanałowo lub drogą podskórnej iniekcji. Absorpcja MTX z przewodu pokarmowego zależy od dawki: jest dobrze wchłaniany w dawkach < 0,8 mg/kg mc., jego biodostępność wynosi 60%. Po podaniu dootrzewnowym i domięśniowym zostaje całkowicie wchłonięty. Przyswajanie metotreksatu przez skórę zwierząt lub ludzi wynosi maksymalnie 24%, w większości badań *in vitro* – od 0,05 do 4,0% dawki początkowej [5–8].

Chatterjee i wsp. [9] wyznaczyli współczynnik wchłaniania MTX przez skórę u myszy HRS/JR *in vitro*, który

wynosi 35 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{godz}$. Od kilku lat są podejmowane próby zastosowania inhalatorów ciśnieniowych z metotreksatem do miejscowego leczenia raka płuc. Ta forma leczenia daje szansę na osiągnięcie stężenia cytotoksycznego w obszarze zajęтым nowotworem przy jednoczesnym zmniejszeniu działań niepożądanych u chorego, z kolei stosowanie metotreksatu w formie aerozolu zwiększa jego wchłanianie przez drogi oddechowe u personelu medycznego zajmującego się chorym. Udało się otrzymać frakcję respirabilną MTX o średnicy aerodynamicznej cząstek 2,5 μm w propelentach, np. 1,1,1,2-tetrafluoroetanie (HFC-134a), 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropanie (HFC-227) czy difluorochlorometanie (HCFC-22). Ocenia się, że dzienna dawka lecznicza MTX w aerozolu mieści się między 1 μg a 500 μg [10,11].

Celem pracy jest omówienie zagrożeń stwarzanych przez metotreksat dla osób zawodowo narażonych na cytostatyki podczas stosowania w praktyce leczniczej oddziałów szpitalnych.

MATERIAŁ I METODY

Przeglądu piśmiennictwa dokonano na podstawie fakto-graficznych (Expert Publishing – ExPub) i bibliograficznych (PubMed, Ebsco) baz naukowych czasopism recenzowanych oraz bazy MEDIP2000. W przygotowaniu niniejszego opracowania wykorzystano prace dotyczące narażenia zawodowego na leki przeciwnowotworowe, ze szczególnym zwróceniem uwagi na dane o metotreksacie. Uwzględniono także informacje pochodzące od producentów MTX, zawarte w kartach charakterystyk substancji, umożliwiającym użytkownikom podjęcie niezbędnych środków dotyczących ochrony zdrowia ludzkiego i bezpieczeństwa w miejscu pracy oraz ochrony środowiska.

WYNIKI

Narażenie zawodowe na metotreksat

W Polsce metotreksat nie jest produkowany. Narażenie zawodowe na niego oceniono za pomocą dozymetrii indywidualnej w zakładzie produkującym MTX w Holandii [12]. Do badań wytypowano 11 pracowników. Pomiar stężenia metotreksatu w powietrzu środowiska pracy przeprowadzono podczas różnych procesów produkcyjnych – mieszania leku, napełniania fiolek i przygotowywania tabletek. Wielkość pobrania MTX oceniono również, oznaczając substancję w moczu z zastosowaniem testu immunofluorescencyjnego (fluorescence polarisation

immunoassay – FPIA) – jest to sposób często stosowany do monitorowania poziomu MTX w surowicy u chorych leczonych metotreksatem. Trzydziestoosobową grupę porównawczą stanowili nienarażeni na metotreksat technicy laboratoryjni.

Metotreksat w stężeniu 0,8–182 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (mediana: 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) wykryto w próbkach powietrza pobranych w strefie oddychania wszystkich pracowników z wyjątkiem tych, którzy wyłącznie napełniali fiołki. Substancję w najwyższym stężeniu 118 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ i 182 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ oznaczono u pracowników odważających substancję. Stwierdzono statystycznie istotne pobranie MTX w badanej grupie w zestawieniu z grupą porównawczą – metotreksat wykryto w próbkach moczu wszystkich pracowników. Średnie skumulowane wydalanie MTX z moczem w ciągu 72–96 godz. wynosiło 13,4 μg równoważników (zakres: 6,1–24 μg równoważników MTX). Podkreślono, że pracownicy byli wyposażeni w lateksowe rękawice ochronne [12].

Narażenie zawodowe na leki przeciwnowotworowe, w tym metotreksat, występuje przede wszystkim w przemyśle farmaceutycznym podczas syntezy lub przetwarzania tych leków, w szpitalach i aptekach podczas ich użytkowania oraz w pralniach czyszczących odzież, ręczniki i pościel pacjentów leczonych cytostatykami, a także w firmach przetwarzających odpady.

Lekarze, pielęgniarki, farmaceuci, ekipy sprzątające i pracze mogą być narażeni na MTX drogą inhalacyjną, podczas wdychania aerozolu leku, i poprzez kontakt ze skórą, np. w czasie przenoszenia z pojemnika do pojemnika, otwierania ampulek, pobierania leku strzykawką, mieszania, wkraplania, dozowania, rozkruszania tabletek, ważenia, kapsułkowania, granulowania, kontaktu z materiałem biologicznym pacjenta oraz z zanieczyszczoną powierzchnią i narzędziami, a także podczas odbierania telefonu komórkowego ręką w zabrudzonej rękawicy ochronnej [13].

Nie znaleziono informacji na temat liczby osób narażonych na MTX w placówkach służby zdrowia w Polsce. Według danych Państwowej Inspekcji Sanitarnej w 2010 r. w narażeniu na cytostatyki pracowało łącznie 3220 pracowników, w tym 2956 kobiet (w 2009 r. było to 3925 pracowników, w tym 3542 kobiety) [14]. Narodowy Instytut Zdrowia i Bezpieczeństwa Stanów Zjednoczonych (NIOSH) [3] oszacował, że potencjalna liczba osób narażonych zawodowo w USA na cytostatyki i inne leki niebezpieczne przekracza 5 mln. Ocena narażenia zawodowego personelu medycznego w Polsce na leki przeciwnowotworowe nie jest przeprowadzana, ponieważ dotychczas nie ustalono prawnie obowiązujących

wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń (NDS) dla stosowanych cytostatyków.

W literaturze przedmiotu można znaleźć tylko nieliczne dane dotyczące wielkości stężeń metotreksatu w środowisku pracy czy w moczu osób narażonych. Na oddziale szpitalnym w Holandii, gdzie codzienne zużycie MTX wynosiło 64–140 mg (w ciągu 4 dni badawczych – 354 mg), oznaczono metotreksat w powietrzu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (high-performance liquid chromatography – HPLC), z detekcją w ultrafiolecie, w stężeniu $0,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$, podczas przygotowywania leku (przy granicy wykrywalności metody $60 \mu\text{g}/\text{l}$ próbki i desorpcji z filtra 50 ml roztworu wodorotlenku sodu (NaOH) objętość pobranego powietrza wynosiła $23\text{--}92 \text{ m}^3$). Oznaczano także MTX na rękawicach ochronnych w ilości maks. $156 \mu\text{g}$ na lewą rękawicę i $40 \mu\text{g}$ na prawą rękawicę [15]. Na czyszczonych powierzchniach w pokojach przygotowawczych stężenie cytostatyku wynosiło $5,5\text{--}5,9 \text{ ng}/\text{cm}^2$ [16].

W innym badaniu, przeprowadzonym w 10 szpitalach wchodzących w skład kliniki onkologicznej w Illinois, przyjmujących do 200 pacjentów/tydzień, gdzie zużycie leku w czasie badania powietrza wynosiło $480\text{--}2240 \text{ mg}$ ($24\text{--}94$ ampułki), stężenie metotreksatu w powietrzu pokoi przygotowawczych, badań, pielęgniarskich i lekarskich znajdowało się poniżej granicy wykrywalności metody analitycznej (HPLC z detektorem selektywnym), tj. $1,5 \text{ ng}$ w próbce wprowadzanej na kolumnę [17].

Badania przeprowadzone na oddziałach onkologicznych 2 dużych szpitali w Mediolanie podczas przygotowywania leku wykazały, że stężenie MTX na powierzchniach do preparatyki wynosiło $1\text{--}645 \mu\text{g}/\text{m}^2$, na powierzchniach w odległości 1 m od wyciągu: $1\text{--}69 \mu\text{g}/\text{m}^2$, a na powierzchniach $> 1 \text{ m}$ od wyciągu: $1\text{--}200 \mu\text{g}/\text{m}^2$ [18]. Mikrogramowe ilości metotreksatu oznaczono na powierzchniach podłogi, mebli, sprzętów w pokojach przygotowawczych (34 próbki). Maksymalne stężenie MTX wynosiło $645 \mu\text{g}/\text{m}^2$ na polietylenowym pokryciu wyciągu wentylacyjnego (czyli 5% masy metotreksatu używanej dziennie, tj. $70\text{--}260 \text{ mg}/\text{dzień}$) [19].

W innym badaniu, dotyczącym próbek pobranych z powierzchni narzędzi i lodówki, gdzie przechowywano MTX, jego stężenie wynosiło $11\text{--}19 \text{ ng}/\text{m}^2$. Zawartość metotreksatu w użytych rękawicach wynosiła $11,8\text{--}49,3 \text{ ng}$ na rękawicę [20].

W większości prowadzonych projektów badawczych 6 cytostatyków – cyklofosfamid, metotreksat, ifosfamid, epirubicin i cisplatyna/karboplatyna – zidentyfikowano w moczu pracowników opieki medycznej, farmaceutów i personelu pielęgniarskiego, a także

w moczu pracowników służby zdrowia, którzy byli narażeni na kontakt w wyniku wtórnego zanieczyszczenia powierzchni roboczych, odzieży, leków lub pojemników [12,21–23].

W badaniach, którymi objęto 185 pracowników (pielęgniarek i techników farmacji) w 3 szpitalach w północnych Włoszech, gdzie największe roczne zużycie MTX wynosiło 500 g na oddział, cytostatyki zidentyfikowano w 36% próbek moczu pobranych pod koniec zmiany roboczej [24]. Maksymalne stężenie metotreksatu w moczu pracowników oddziału hematologii wynosiło $1,1 \mu\text{g}/\text{l}$ moczu, a na oddziale onkologii – $2,01 \mu\text{g}/\text{l}$. Jednocześnie w 104 próbkach pobranych z powierzchni narzędzi wykazano zawartość MTX wynoszącą średnio $28\text{--}50,8 \text{ mg}/\text{m}^2$, a maksymalnie – $2,5 \text{ g}/\text{m}^2$.

Ocena narażenia pracowników przygotowujących infuzje, personelu pomocniczego i bezpośrednio opiekującego się pacjentem oraz pracowników aptek w 28 szpitalach w Austrii wykazała, że najwyższe skumulowane stężenie MTX (112 próbek) wynosiło $1416 \mu\text{g}$ w moczu u osób podłączających i przygotowujących wlewy pacjentom [21]. Metotreksat zidentyfikowano w pocie pacjentów poddawanych chemioterapii, w średnim stężeniu $1,7 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($N = 5$). Maksymalne stężenie MTX w wymiocinach wynosiło $441,5 \mu\text{g}/\text{ml}$ i malało do $0,24 \mu\text{g}/\text{ml}$ po 19,5 godz. od infuzji.

Na łódzkim oddziale szpitalnym stwierdzono obecność metotreksatu w moczu u 12% pracowników oddziałów stosujących leki przeciwnowotworowe [25].

Badania przeprowadzone w 20 aptekach w Kanadzie wykazały obecność MTX w 60% pobranych próbek. Maksymalne stężenie metotreksatu wynosiło $15 \text{ ng}/\text{cm}^2$ powierzchni tacy do odliczania tabletek [26]. W innych 6 aptekach przyszpitalnych 61% wytypowanych powierzchni w pomieszczeniach było skażonych MTX. Stężenie wynosiło $0,0135\text{--}12,45 \text{ ng}/\text{cm}^2$, a największe oznaczono na powierzchniach, gdzie lek był przygotowywany [27].

Przeprowadzono również badanie kwestionariuszowe 1339 pielęgniarek onkologicznych zatrudnionych poza jednostkami szpitalnymi. Pielęgniarki te w ambulatoriach zgłaszały przypadki znacznego, nieumyślnego narażenia skóry i oczu na chemioterapeutyki [28]. Oszacowano prawdopodobieństwo przypadkowego narażenia skóry lub oczu na działanie chemioterapeutyków w zależności od jakości praktyki środowiskowej, obciążenia pielęgniarek i standardów bezpieczeństwa podawania chemioterapii. Uzyskano 16,9% odpowiedzi pozytywnych przy minimalnych różnicach demograficznych. Wieloczynnikowa logistyczna analiza regresji

wykazała, że prawdopodobieństwo narażenia zmniejsza się, kiedy opiekę pielęgniarską zapewnia odpowiednia liczba personelu i są stosowane środki ochrony.

Klasyfikacja

Metotreksat nie ma zharmonizowanej klasyfikacji w Unii Europejskiej. Według GESTIS-Stoffdatenbank [29] metotreksat zaklasyfikowano do następujących klas zagrożenia:

- toksyczność ostra, kategoria 3.: Acute Tox. 3 H301 + H311 + H331,
- działanie drażniące na skórę, kategoria 2.: Skin Irrit. 2 H315,
- działanie drażniące na oczy, kategoria 2.: Eye Irrit. 2 H319,
- działanie mutagenne na komórki rozrodcze, kategoria 1B: Muta 1B H340,
- działanie szkodliwe na rozrodczość, kategoria 1A (klasyfikacja substancji w kategorii 1A została w dużej mierze oparta na dowodach pochodzących z badań dotyczących ludzi): Repr. 1A; H360FD,
- działanie toksyczne na narządy docelowe kategorii 3.: STOT 3; H335, gdzie:
 - H301 – działa toksycznie po połknięciu,
 - H311 – działa toksycznie w kontakcie ze skórą,
 - H331 – działa toksycznie w następstwie wdychania,
 - H315 – działa drażniąco na skórę,
 - H319 – działa drażniąco na oczy,
 - H335 – może powodować podrażnienie dróg oddechowych,
 - H340 – może powodować wady genetyczne,
 - H360FD – może działać szkodliwie na płodność lub na dziecko w łonie matki.

Główne skutki uboczne leku metotreksat

Działanie metotreksatu jako leku polega na zahamowaniu reakcji enzymatycznych, które umożliwiają podział komórek nowotworowych. Najgroźniejszymi objawami niepożądanymi w przypadku tego antymetabolitu są: spowolnienie czynności szpiku kostnego, skutki działania hepatotoksycznego i zaburzenia płodności. Badania przeprowadzone na kilku tysiącach pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, leczonych MTX przewlekłe w niskiej dawce terapeutycznej ≤ 10 mg/tydzień, wykazały wystąpienie niekorzystnych skutków, takich jak niedokrwistość, istotny wzrost aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT) – działanie toksyczne na wątrobę, uszkodzenie nerek, a także efektów ubocznych ze strony układu pokarmowego, ośrodkowego układu nerwowego oraz płuc i niesprzyjającego działania na błony śluzowe, skórę i włosy [30,31].

Działanie toksyczne na wątrobę, jak stłuszczenie, martwica, włóknienie okołowrotne i marskość, raportowano u pacjentów z łuszczycą, którym przewlekłe podawano MTX [32,33]. Krytyczne stężenie metotreksatu w osoczu, hamujące czynności szpiku kostnego, jest bardzo niskie i wynosi 2×10^{-8} mol MTX/l osocza. Biorąc pod uwagę, że substancja jest wchłaniana z dróg oddechowych, a przyswajanie jej przez skórę może być równie istotne jak przy narażeniu drogą inhalacyjną, można oczekiwać, że u personelu oddziałów szpitalnych wystąpią skutki narażenia na działanie MTX [34–37].

Skutki narażenia zawodowego

W przypadku kontaktu z metotreksatem może wystąpić podrażnienie oczu i błon śluzowych nosa. Za najważniejszy czynnik ryzyka dla personelu medycznego narażonego na cytostatyki uznano jednak kontakt ze skórą. Najczęściej zgłaszane objawy skórne były związane z usuwaniem wycieków oraz kontaktem z ekskrementami pacjentów poddawanych chemioterapii. Istnieją doniesienia, że narażenie zawodowe na cytostatyki (w tym metotreksat) drogą inhalacyjną i przez skórę powodowało ostre objawy, jak wypadanie włosów, bóle brzucha, owrzodzenia błony śluzowej nosa, zapalenie kontaktowe skóry, reakcje alergiczne oraz uszkodzenia oczu i skóry u pielęgniarek i techników farmaceutycznych [13].

Dostępne dane dotyczące narażenia na MTX obejmują jego łączne działanie z innymi lekami cytostaticznymi. Pucci i wsp. [34] ocenili, że jednym z pierwszych objawów narażenia na cytostatyki u personelu medycznego przygotowującego i podającego leki są bóle głowy. Badano grupę 12 pracowników przygotowujących takie leki, jak nimustyna (N⁷-[4-Amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl]-N-(2-Chloroethyl)-N-NitrosoUrea – ACNU), MTX, mitoksantron, winkrystyna, cyklofosfamid, karboplatyna w pokojach do przygotowywania leków – 66,6% badanych uskarżało się na częste bóle głowy.

Za pomocą kwestionariusza badano wpływ narażenia zawodowego na leki przeciwnowotworowe na występowanie ostrych objawów ekspozycji u 8566 farmaceutów, techników farmacji, pielęgniarek i pielęgniarzy [35–37]. Badaniami objęto 57 instytucji biorących udział w amerykańskim projekcie National Surgical Adjuvant Breast and Bowel (NSABB, Wspierania Chirurgii Raka Piersi i Jelita Grubego) sponsorowanym przez National Cancer Institute (NCI, Narodowy Instytut Walki z Rakiem). Zebrano dane na temat 4 wykonywanych czynności w zakresie obróbki cytostatyków – mieszanina leków przeciwnowotworowych, podawania

tych leków, sprzątanía wycieków leków i usuwania wydalín pacjenta.

W pierwszym etapie do badań wytypowano 738 techników farmacji i farmaceutów [35]. Uzyskano informacje na temat dawki, czasu trwania czynności, stosowania środków ochrony i kontaktu ze skórą. Objawy ostre pogrupowano następująco:

- ze strony układu pokarmowego – utrata apetytu, nudności, wymioty, biegunka, kolka jelitowa, obstrukcje;
- neurologiczne – ból głowy, zawroty głowy, zasłabnięcie, bezsensowność;
- alergiczne – reakcje alergiczne, podrażnienie oczu, wysypka;
- infekcje – przewlekły kaszel, przewlekły ból gardła, kaszel w pozycji leżącej, gorączka;
- kardiologiczne – płytki oddech, arytmia, obrzęk dłóni i stóp, ucisk w klatce piersiowej, podwyższone ciśnienie krwi;
- ogólne układowe – wypadanie włosów, przebarwienia paznokci, ból w trakcie oddawania moczu, obniżone libido, złe samopoczucie.

Respondenci wskazywali, którego z 27 wymienionych ostrych objawów doświadczyli w ciągu ostatnich 3 miesięcy. Postępowanie z cytostatykami wiązało się z małym, ale znaczącym, wzrostem liczby objawów ostrych w zestawieniu z grupą porównawczą, takich jak biegunka i przewlekły ból gardła. Liczba obserwowanych symptomów różniła się istotnie w zależności od płci, a za najważniejszy czynnik ryzyka uznano kontakt ze skórą.

Objawy ostre u kobiet istotnie zależały od tego, czy respondentki były narażone na kontakt z cytostatykiem przez skórę, czy nie ($p < 0,01$), a liczba tych objawów wzrastała wraz z liczbą przypadków i dawką ($p = 0,06$). Kontakt ze skórą był także czynnikiem prognozującym u mężczyzn ($p = 0,02$).

U techników farmacji i farmaceutów płci męskiej, u których miał miejsce kontakt MTX ze skórą ($N = 68$), stwierdzono istotny statystycznie ($p < 0,05$) wzrost liczby układowych objawów ogólnych i kardiologicznych w porównaniu z pracownikami niemającymi kontaktu ze skórą ($N = 178$), odpowiednio: 44 vs 29 i 43 vs 20.

W grupie kobiet narażanych przez skórę ($N = 78$) obserwowano istotny statystycznie wzrost liczby objawów ze strony układu pokarmowego oraz alergii w porównaniu z pracownicami nienarażonymi ($N = 29$), odpowiednio: 52 vs 38 i 37 vs 24. Jednocześnie wzrost liczby objawów kardiologicznych u mężczyzn był istotny statystycznie ($p < 0,05$) w zestawieniu z grupą porównawczą ($N = 61$).

W badaniu dotyczącym 2048 pielęgniarek w ramach drugiego etapu tego samego projektu objawy ostre ogólne układowe zgłaszało 45% i 58% respondentek, odpowiednio w przypadku braku kontaktu ze skórą i w sytuacji różnego stopnia takiego kontaktu, objawy kardiologiczne – 37% i 44%, ze strony układu pokarmowego – 39% i 48%, neurologiczne – 36% i 46% [36]. Najczęściej zgłaszane objawy skórne były związane z usuwaniem wycieków, a także z kontaktem z ekskrementami pacjentów poddawanych chemioterapii. Znacząco więcej ostrych objawów wystąpiło u pielęgniarek mających kontakt z substancją poprzez skórę.

Badaniem ankietowym objęto 20 lekarzy, 59 pielęgniarek i 25 salowych narażonych na cytostatyki, zatrudnionych na 4 oddziałach chemioterapii w Łodzi, oraz 103 osoby z grupy porównawczej [38]. Większość badanych w obydwu grupach stanowiły kobiety (96,2% i 95,1%), przeważnie w wieku rozrodczym. Kwestionariusz zawierał pytania o dane demograficzne, przebieg pracy zawodowej ze szczególnym uwzględnieniem okresu narażenia na leki przeciwnowotworowe, a także na temat występowania obecnie i w przeszłości wzmożonego wypadania włosów, zmian w obrębie paznokci, zmian skórnych, nieprawidłowych wyników morfologii krwi obwodowej i badań laboratoryjnych wątroby i nerek, rozpoznanych chorób i przyjmowanych leków. Kwestionariusz obejmował także szczegółowy wywiad położniczy. Wykonano również badania laboratoryjne.

Najczęstszymi dolegliwościami zgłaszanymi w grupie narażonej były zmiany w przydatkach skóry: wzmożone wypadanie włosów (60% vs 10,7% w grupie porównawczej) i zmiany w obrębie paznokci (47,1% vs 44,7%). W osobniczym i rodzinnym wywiadzie dotyczącym chorób nowotworowych żaden z uczestników badania nie zgłosił przebytej ani obecnej choroby nowotworowej. Analiza danych uzyskanych ze szczegółowego wywiadu położniczego ujawniła znaczny odsetek ciężkich wad wrodzonych u potomstwa osób narażonych na cytostatyki w zestawieniu z grupą porównawczą (4,8% ogólnej liczby odnotowanych ciąż w okresie pracy w narażeniu vs 0,6% wszystkich ciąż osób z grupy porównawczej).

W grupie narażonej częstsze były także poronienia samoistne (8,3% vs 5,3%) niż w grupie porównawczej, jednak nie osiągnęły one znamienności statystycznej. Analiza statystyczna U Manna-Whitneya wykazała, że ze wszystkich uzyskanych danych jedynie skargi na wzmożone wypadanie włosów były istotnie częstsze w grupie osób narażonych na cytostatyki w zestawieniu z grupą porównawczą [38].

Genotoksyczność i mutagenność

Metotreksat jest substancją o potwierdzonym działaniu genotoksycznym u zwierząt. Działanie klastogenne na komórki limfocytów ludzkich oraz uszkodzenia chromosomów w szpiku kostnym i wzrost częstości występowania mikrojąder obserwowano również u osób leczonych metotreksatem [39–41].

Genotoksyczność wywoływana przez metotreksat potwierdzono w obserwacjach u 21 osób narażonych zawodowo, zatrudnionych w zakładzie produkującym MTX. Związek powodował uszkodzenia genetyczne w testach: mikrojądrowym (micronucleus test – MN), kometowym, mutacji genowych, tj. genów kodujących fosforybozylotransferazę hipoksantynową (hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase – HPRT) oraz genów receptora T (T cell receptor – TCR). Wykazano, że średnia liczba mikrojąder u pracowników wynosiła $10,1 \pm 0,95\%$ i była istotnie większa niż w grupie porównawczej ($5,48 \pm 0,82\%$, $p < 0,01$). Średnia długość ogona komety (mean tail length – MTL) istotnie różniła się u pracowników narażonych na MTX i w grupie porównawczej oraz wynosiła odpowiednio: $1,3 \pm 0,06 \mu\text{m}$ i $0,07 \pm 0,01 \mu\text{m}$ ($p < 0,01$). Średnia częstość mutacji genów HPRT i TCR (mutation frequency HPRT – Mf-HPRT) i Mfs-TCR (mutation frequencies – TCR) była istotnie większa u pracowników narażonych na MTX (odpowiednio $1 \pm 0,02\%$ vs $0,86 \pm 0,01\%$, $p < 0,01$; $6,87 \pm 0,52 \times 10^{-4}$ vs $1,67 \pm 0,14 \times 10^{-4}$, $p < 0,01$). W środowisku pracy nie monitorowano stężenia metotreksatu w powietrzu ani w materiale biologicznym. Udowodniono wpływ długości okresu zatrudnienia na wyniki testu mikrojądrowego [42].

Dostępne są wyniki badań cytogenetycznych u personelu medycznego narażonego na różne leki przeciwnowotworowe. W niektórych pracach nie wskazano, na wpływ których leków cytostatycznych personel był narażony. Można podsumować, że w badaniach tych stwierdzano wzrost ryzyka działania genotoksycznego u pracowników, lecz może być ono zmniejszone przez lepsze zarządzanie i stosowanie środków zapobiegawczych. Pozytywne wyniki uzyskano w testach aberracji chromosomowych, wymiany chromatyd siostrzanych, teście mikrojądrowym, kometowym i mutacji genowych [43].

Wzrost częstości aberracji chromosomowych w komórkach limfocytów krwi obwodowej stwierdzono w badaniach dotyczących 20 pielęgniarek pracujących z chemioterapeutykami, w tym metotreksatem. Częstość nieprawidłowości w komórkach wynosiła $1,15\% \pm 0,65$ i $2,55\% \pm 1,63$ odpowiednio z uwzględnieniem pęknięć

chromatyd i pęknięć chromatyd z przemieszczeniem fragmentu oraz z wyłączeniem tych uszkodzeń. W grupie porównawczej wyznaczono częstość aberracji odpowiednio: $0,49 \pm 0,56\%$ oraz $1,01 \pm 0,97\%$. Analiza wariancji wykazała, że głównym czynnikiem odpowiedzialnym za uszkodzenia w komórkach jest narażenie na leki przeciwnowotworowe ($p = 0,021$ i $p = 0,002$) [44]. Wiek ani palenie papierosów nie były istotnymi czynnikami dla częstości aberracji. W innym badaniu przeprowadzonym na 10 pielęgniarkach zatrudnionych przy pracy z cytostatykami (cisplatyna, cyklofosfamid, ifosfamid, winkrystyna, doksorubicyna, daktynomycyna, cytozyna i metotreksat) wykazano istotny wzrost częstości aberracji chromosomowych oraz liczby mikrojąder [45]. Wszystkie badane pielęgniarki były wyposażone w rękawice ochronne, maski chirurgiczne, fartuchy ochronne i czepki. Kolejne badanie, które obejmowało 17 pielęgniarek z oddziału onkologicznego, wykazało nieistotny wzrost częstości wymiany chromatyd siostrzanych w przypadku kobiet stosujących środki ochrony osobistej, natomiast w przypadku pielęgniarek ich niestosujących w stosunku do grupy zarówno porównawczej ($p < 0,001$), jak i niestosującej żadnego rodzaju ochrony ($p < 0,001$) wzrost ten był istotny [46]. Nie podano informacji dotyczących wielkości stężeń MTX w powietrzu środowiska pracy lub w materiale biologicznym wykorzystanym w tych badaniach.

Działanie na rozrodczość

Metotreksat wykazywał działanie teratogenne i embriotoksyczne u różnych gatunków zwierząt. W dawkach nietoksycznych dla matek lek ten prowadził do występowania letalnych wad u płodów. Wady rozwojowe obejmowały m.in. rozszczep twarzoczaszki z towarzyszącym wtórnym rozszczepem podniebienia, brak gałek ocznych, małowocze, otwarte powieki, wodogłowie, wady kości kończyn przednich i tylnych [47].

Metotreksat u ludzi wpływa na rozrodczość zarówno w okresie leczenia, jak i przez krótki czas po jego zakończeniu, powoduje zaburzenia płodności, oligospermie, zaburzenia miesiączkowania oraz brak miesiączki. Ponadto wywiera szkodliwe działanie na zarodki, prowadzi do poronień i występowania wad u płodów [48,49]. Znalaziono ok. 24 doniesień opisujących przypadki występowania wad urodzeniowych u dzieci, których matki były leczone metotreksatem w pierwszym trymestrze ciąży [49–53]. Wady rozwojowe obejmowały twarzoczaszkę, szkielet, układ krążenia, układ pokarmowy i nieprawidłowości narządów płciowych.

Metotreksat powoduje zaburzenia płodności u kobiet przewlekle leczonych chemioterapią z powodu nowotworów, ale niektóre raporty opisują także występowanie przypadków zaburzeń płodności u mężczyzn z łuszczycą leczonych MTX, u których zmniejszyła się ilość nasienia i jego ruchliwość, a także pogorszyła morfologia plemników. Niezależna identyfikacja działania poszczególnych leków przeciwnowotworowych u personelu medycznego nie może być w odpowiedni sposób rozpoznana, ponieważ wiele doniesień wskazuje, że zwykle styka się on jednocześnie z kilkoma czynnikami.

U 17 fińskich pielęgniarek w szpitalach onkologicznych w badaniu kliniczno-kontrolnym oceniano zależność między występowaniem poronień a narażeniem na leki przeciwnowotworowe, na podstawie danych na temat liczby ciąż w latach 1973–1980 [47]. Statystycznie istotny związek zaobserwowano między liczbą poronień a narażeniem na leki przeciwnowotworowe w pierwszym trymestrze ciąży (iloraz szans (odds ratio – OR) = 2,30; 95% CI: 1,20–4,39). W badaniu kwestionariuszowym obserwowano wzrost przypadków bezpłodności w grupie 4659 osób (pielęgniarek i personelu aptek 200 zakładów opieki medycznej) narażonych na cytostatyki (OR = 1,5; 95% CI: 1,1–2).

Ocena narażenia zawodowego na metotreksat

W Polsce dotychczas nie ustalono wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń metotreksatu w środowisku pracy. Dopuszczalne poziomy narażenia zawodowego MTX niektórzy jego producenci – np. Fermion Oy, Pfizer, American Cyanamide, American Pharmaceutical Partners (APP), Santa Cruz Biotechnology, Bedford Laboratories, US Pharmacopeia [4,54–59] – ustalili na poziomie 0,3–2,5 µg/m³. Firma American Pharmaceutical Partners podała, że podstawą do ustalenia normatywu była dawka terapeutyczna, punkty wyjścia pozostałych wartości nie są znane. Za narządy krytyczne uznano szpik kostny, krew, układ immunologiczny, wątrobę, nerki, układ pokarmowy, skórę, płuca i układ rozrodczy. Ustalony normatyw ma zabezpieczyć pracowników przed skutkami działania MTX, takimi jak zaburzenia pracy wątroby, zwłóknienia w płucach, niedokrwistość, neutropenia i nudności [56].

Należy podkreślić, że metotreksat z racji jego zastosowania jako leku jest analizowany przez różne organizacje międzynarodowe w świetle prawa farmaceutycznego. Według NIOSH, Międzynarodowego Stowarzyszenia Farmaceutów Producentów (The

International Academy of Compounding Pharmacists – IACP), a także Amerykańskiego Stowarzyszenia Farmaceutów (American Society of Health-System Pharmacists – ASHP) został on zaliczony do kategorii leków niebezpiecznych, w przypadku których przemysł farmaceutyczny powinien stosować normatyw higieniczny w miejscu pracy mniejszy niż 10 µg/m³.

WNIOSKI

Profilaktyka narażenia zawodowego na cytostatyki i obecnie obowiązujące regulacje prawne [60] niewystarczająco chronią zdrowie personelu medycznego, dopóki nie ma możliwości przeprowadzania oceny narażenia zawodowego, czyli dopóki nie zostaną ustalone wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń w środowisku pracy dla metotreksatu i innych wybranych cytostatyków. Przeprowadzane badania ankietowe nie dostarczają jednoznacznych danych, które pozwalają ustalić zależność między skutkami zdrowotnymi wywołanymi narażeniem a poziomem narażenia w środowisku pracy. Dopiero ustalenie wartości normatywnych i konieczność ich dotrzymania nałoży na pracodawców obowiązek monitorowania środowiska pracy i pozwoli na ocenę rzeczywistego narażenia personelu medycznego.

Należy podkreślić, że w przypadku metotreksatu jego wchłanianie przez skórę może być podobnie istotne jak przy narażeniu drogą oddechową, a pomiar jego stężenia w środowisku pracy może nie wystarczać do oszacowania rzeczywistego narażenia. Do oceny poziomu narażenia lub ryzyka wystąpienia skutków zdrowotnych mogą służyć wyniki monitoringu biologicznego. Mimo trudności analitycznych wykonuje się oznaczenia w moczu w postaci niezmienionej takich cytostatyków, jak cyklofosfamid, ifosfamid, leków zawierających platynę i metotreksat. Badania wykazały, że w dawkach stosowanych klinicznie metotreksat jest głównie metabolizowany do 7-hydroksmetotreksatu [61].

Obecnie trudno ocenić, czy monitorowanie stężenia metabolitu metotreksatu będzie możliwe, ponieważ nie otrzymano danych pozwalających uzyskać zależność dawka–odpowiedź, która mogłaby być podstawą wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym. Do tego czasu dopuszczalny poziom MTX w moczu powinien być niższy od granicy wykrywalności w stosowanej nowoczesnej metodzie analitycznej, np. immunofluorescencyjnej w świetle spolaryzowanym czy wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

PIŚMIENNICTWO

1. International Agency for Research on Cancer: Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Volume 76: Some antiviral and antineoplastic drugs, and other pharmaceutical agents. IARC, Lyon 2000
2. Bailin P.L., Tindall J.P., Roenigk Jr H.H., Hogan M.D.: Is methotrexate therapy for psoriasis carcinogenic? A modified retrospective-prospective analysis. *JAMA*. 1975;232:359–362, <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1975.03250040013017>
3. Department of Health and Human Services, Center for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health: List of antineoplastic and other hazardous drugs in healthcare settings. NIOSH, Cincinnati 2012
4. U.S. Pharmacopeia: Safety data sheet. Methotrexate. Version 02; luty 2013 [cytowany 12 września 2014]. Adres: <http://www.usp.org/pdf/EN/referenceStandards/msds/1414003.pdf>
5. McCullough J.L., Snyder D.S., Weinstein G.D., Friedland A., Stein B.: Factor affecting human percutaneous penetration of methotrexate and its analogues *in vitro*. *J. Invest. Dermatol.* 1976;66:103–107, <http://dx.doi.org/10.1111/1523-1747.ep12481444>
6. Alvarez-Figueroa M.J., Delgado-Charro M.B., Blanco-Mendez J.: Passive and iontophoretic transdermal penetration of methotrexate. *Int. J. Pharm.* 2001;212:101–107, [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(00\)00599-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(00)00599-8)
7. Stewart W.D., Wallace S.M., Runikis J.O.: Absorption and local action of methotrexate in human and mouse skin. *Arch. Dermatol.* 1972;106:357–361, <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1972.01620120045009>
8. Newbold P.C.H., Stoughton R.B.: Percutaneous absorption of methotrexate. *J. Invest. Dermatol.* 1972;58:319–322, <http://dx.doi.org/10.1111/1523-1747.ep12540437>
9. Chatterjee D.J., Li W.Y., Koda R.T.: Effects of vehicles and penetration enhancers on the *in vitro* and *in vivo* percutaneous absorption of methotrexate and edatrexate through hairless mouse skin. *Pharm. Res.* 1997;14(8):1058–1065, <http://dx.doi.org/10.1023/A:1012109513643>
10. Shaik M.S., Haynes A., McSween J., Ikediobi O., Kanikkannan N., Singh M.: Inhalation delivery of anticancer agents via HFA-based metered dose inhaler using methotrexate as a model drug. *J. Aerosol Med.* 2002;15(3):261–270
11. McGlashan A.J.R., Strong P., Middlemiss D., Hayes A.G., Morton D.A.V. (wynalazcy): Pharmaceutical compositions comprising methotrexate. Patent nr WO2007057714A2, 24 maja 2007 [cytowany 12 września 2014]. Adres: <http://www.google.com/patents/WO2007057714A2?cl=en>
12. Sessink P.J.M., Friemel N.S.S., Anzion R.B.M., Bos R.P.: Biological and environmental monitoring of occupational exposure of pharmaceutical plant workers to methotrexate. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 1994;65:401–403, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00383251>
13. Polovich M., Giesecker K.E.: Occupational hazardous drug exposure among non-oncology nurses. *Medsurg Nurs.* 2011;20(2):79–85, 97
14. Działalność Państwowej Inspekcji Sanitarnej w 2010 roku w zakresie higieny pracy; czerwiec 2011 [cytowany 29 marca 2015]. Adres: <http://www.psseopole.pl/user-files/file/Dzia%C5%82alno%C5%9B%C4%87%20PIS%20w%202010%20roku%20dla%20PIP.pdf>
15. Sessink P.J.M., Anzion R.B., van den Broek P.H.H., Bos R.P.: Detection of contamination with antineoplastic agents in a hospital pharmacy department. *Pharm. Weekbl. Sci.* 1992;14(1):16–22, <http://dx.doi.org/10.1007/BF01989220>
16. Kromhout H., Hoek F., Uitterhoeve R., Huijbers R., Overmars R.F., Anzion R.: Postulating a dermal pathway for exposure to antineoplastic drugs among hospital workers. Applying a conceptual model to the results of three workplace surveys. *Ann. Occup. Hyg.* 2000;44(7):551–560
17. DeWerk Neal A., Wadden R.A., Chiou W.L.: Exposure of hospital workers to airborne antineoplastic agents. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1983;40:597–601
18. Rubino F.M., Floridia L., Pietropaolo A.M., Tavazzani M., Colombi A.: Measurement of surface contamination by certain antineoplastic drugs using high-performance liquid chromatography: Applications in occupational hygiene investigations in hospital environments. *Med. Lav.* 1999;90(4):572–583
19. Floridia L., Pietropaolo A.M., Tavazzani M., Rubino F.M., Colombi A.: High-performance liquid chromatography of methotrexate for environmental monitoring of surface contamination in hospitals departments and assessment of occupational exposure. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. App.* 1999;726:95–103, [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347\(98\)00561-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347(98)00561-1)
20. Ziegler E., Mason H.J., Baxter P.J.: Occupational exposure to cytotoxic drugs in two UK oncology wards. *J. Occup. Environ. Med.* 2002;59:608–612, <http://dx.doi.org/10.1136/oem.59.9.608>
21. Mader R.M., Rizovski B., Steger G.G., Wachter A., Kotz R., Rainer H.: Exposure of oncologic nurses to methotrexate in the treatment of osteosarcoma. *Arch. Environ. Health* 1996;51(4):310–314, <http://dx.doi.org/10.1080/00039896.1996.9936030>
22. Pethran A., Schierl R., Hauff K., Grimm C.H., Boos K.S., Nowak D.: Uptake of antineoplastic agents in pharmacy

- and hospital personnel. Part I: Monitoring of urinary concentrations. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2003;76: 5–10, <http://dx.doi.org/10.1007/s00420-002-0383-8>
23. Wick C., Slawson M.H., Jorgenson J.A., Tyler L.S.: Using a closed-system protective device to reduce personnel exposure to antineoplastic agents. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2003;60:2314–2320
 24. Sabatini L., Barbieri A., Lodi V., Violante F.S.: Biological monitoring of occupational exposure to antineoplastic drugs in hospital settings. *Med. Lav.* 2012;103(5):394–401
 25. Walusiak J., Wągrowaska-Koski E.: Zasady postępowania przy stosowaniu leków cytostatycznych. *Pr. Zdrowie* 2008;3:38–40
 26. Merger D., Tanguay C., Langlois E., Lefebvre M., Busières J.-F.: Environmental contamination with methotrexate in Canadian community pharmacies. *J. Am. Pharm. Assoc.* 2013;53:423–426, <http://dx.doi.org/10.1331/JPhA.2013.12245>
 27. Chu W.C., Hon C.-Y., Danyluk Q., Chua P.P.S., Astrakianakis G.: Pilot assessment of the antineoplastic drug contamination levels in British Columbian hospitals pre- and post-cleaning. *J. Oncol. Pharm. Pract.* 2011;18(1):46–51, <http://dx.doi.org/10.1177/1078155211402106>
 28. Friese C.R., Himes-Ferris L., Frasier M.N., McCullagh M.C., Griggs J.J.: Structures and processes of care in ambulatory oncology settings and nurse-reported exposure to chemotherapy. *BMJ Qual. Saf.* 2012;21:753–759, <http://dx.doi.org/10.1136/bmjqs-2011-000178>
 29. GESTIS-Stoffdatenbank: 4-Amino-N10-methylpteroylglutamic acid. IFA. Elektroniczna baza danych [cytowany 12 września 2014]. Adres: [http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/000000.xml?f=templates&fn=default.htm\\$3.0](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/000000.xml?f=templates&fn=default.htm$3.0)
 30. Gilani S.T., Khan D.A., Khan F.A., Ahmed M.: Adverse effects of low dose methotrexate in rheumatoid arthritis patients. *J. Coll. Physicians Surg. Pak.* 2012;22(2):101–104
 31. Salliot C., van der Heijde D.: Long-term safety of methotrexate monotherapy in patients with rheumatoid arthritis: A systematic literature research. *Ann. Rheum. Dis.* 2009;68:1100–1104, <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2008.093690>
 32. Van Swelm R.P.L., Laarakkers C.M.M., Kooijmans-Otero M., de Jong E.M.G.J., Masereeuw R., Russel F.G.M.: Biomarkers for methotrexate-induced liver injury: Urinary protein profiling of psoriasis patients. *Toxicol. Lett.* 2013;221:219–224, <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.06.234>
 33. Barker J., Horn E.J., Lebwohl M., Warren R.B., Nast A., Rosenberg W. i wsp.: Assessment and management of methotrexate hepatotoxicity in psoriasis patients: Report from a consensus conference to evaluate current practice and identify key questions toward optimizing methotrexate use in the clinic. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* 2011;25:758–764, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-3083.2010.03932.x>
 34. Pucci E., Matozzo F., Luppi P., Micoli G., Sottani C., Minoia C. i wsp.: Headache as „sentinel” symptom in personnel involved in the preparation and administration of antineoplastic drugs. *G. Ital. Med. Lav. Ergon.* 2005;27(4):412–416
 35. Valanis B.G., Vollmer W.M., Labuhn K.T., Glass A.G.: Association of antineoplastic drug handling with acute adverse effects in pharmacy personnel. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 1993;50(3):455–462
 36. Valanis B.G., Vollmer W.M., Labuhn K.T., Glass A.G.: Acute symptoms associated with antineoplastic drug handling among nurses. *Cancer Nurs.* 1993;16(4):288–295, <http://dx.doi.org/10.1097/00002820-199308000-00005>
 37. Valanis B., Vollmer W., Labuhn K., Glass A.: Occupational exposure to antineoplastic agents and self-reported infertility among nurses and pharmacists. *J. Occup. Environ. Med.* 1997;39(6):574–580, <http://dx.doi.org/10.1097/00043764-199706000-00013>
 38. Walusiak-Skorupa J., Wągrowaska-Koski E., Pałczyński C.: Ocena skutków zdrowotnych zawodowej ekspozycji na cytostatyki u personelu medycznego w świetle obowiązującej profilaktyki: badanie przekrojowe. *Med. Pr.* 2003;54(3):229–236
 39. Voorhees J.J., Janzen M.K., Harrell E.R., Chakrabarti S.G.: Cytogenetic evaluation of methotrexate-treated psoriatic patients. *Arch. Dermatol.* 1969;100:269–274, <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1969.01610270011002>
 40. Jensen M.K.: Chromosome studies in patients treated with azathioprine and amethopterin. *Acta Med. Scand.* 1967;182:445–455
 41. Jensen M.K., Nyfors A.: Cytogenetic effect of methotrexate on human cells *in vivo*: Comparison between results obtained by chromosome studies on bone-marrow cells and blood lymphocytes and by the micronucleus test. *Mutat. Res.* 1979;64:339–343, [http://dx.doi.org/10.1016/0165-1161\(79\)90126-2](http://dx.doi.org/10.1016/0165-1161(79)90126-2)
 42. Deng H., Zhang M., He J., Wu W., Jin L., Zheng W. i wsp.: Investigating genetic damage in workers occupationally exposed to methotrexate using three genetic end-points. *Mutagenesis* 2005;20(5):351–357, <http://dx.doi.org/10.1093/mutage/gei048>
 43. Rombaldi F., Cassini C., Salvador M., Saffi J., Erdtmann B.: Occupational risk assessment of genotoxicity and oxidative stress in workers handling anti-neoplastic drugs during a working week. *Mutagenesis* 2009;24(2):143–148, <http://dx.doi.org/10.1093/mutage/gen060>

44. Burgaz S., Karahalil B., Canli Z., Ancel G., Anzion R.B.M., Bos R.P. i wsp.: Assessment of genotoxic damage in nurses occupationally exposed to antineoplastics by the analysis of chromosomal aberrations. *Hum. Exp. Toxicol.* 2002;21: 129–135, <http://dx.doi.org/10.1191/0960327102ht230oa>
45. Kevekordes S., Gebel T.W., Hellwig M., Dames W., Dunkelberg H.: Human effect monitoring in cases of occupational exposure to antineoplastic drugs: A method comparison. *Occup. Environ. Med.* 1998;55:145–149, <http://dx.doi.org/10.1136/oem.55.3.145>
46. Brumen V., Horvat D.: Work environment influence on cytostatics-induced genotoxicity in oncologic nurses. *Am. J. Ind. Med.* 1996;30:67–71, [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0274\(199607\)30:1<67::AID-AJIM11>3.0.CO;2-6](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0274(199607)30:1<67::AID-AJIM11>3.0.CO;2-6)
47. Health Council of the Netherlands: Methotrexate. Evaluation of the effects on reproduction, recommendation for classification. The State Secretary of Social Affairs and Employment, Health Council of the Netherlands, Haga 2011
48. Lloyd M.E., Carr M., McElhatton P., Hall G.M., Hughes R.A.: The effects of methotrexate on pregnancy, fertility and lactation. *QJM.* 1999;92:551–563, <http://dx.doi.org/10.1093/qjmed/92.10.551>
49. Nguyen C., Duhl A.J., Escallon C.S., Blakemore K.J.: Multiple anomalies in a fetus exposed to low-dose methotrexate in the first trimester. *Obstet. Gynecol.* 2002;99(4): 599–602, [http://dx.doi.org/10.1016/S0029-7844\(01\)01607-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0029-7844(01)01607-6)
50. Martinez Lopez J.A., Loza E., Carmona L.: Systematic review on the safety of methotrexate in rheumatoid arthritis regarding the reproductive system (fertility, pregnancy, and breastfeeding). *Clin. Exp. Rheumatol.* 2009;27(4):678–684
51. Feldkamp M., Care J.C.: Clinical teratology counseling and consultation case report: Low dose methotrexate exposure in the early weeks of pregnancy. *Teratology* 1993;47:533–539, <http://dx.doi.org/10.1002/tera.1420470605>
52. Hyoun S.C., Obican S.G., Scialli A.R.: Teratogen update: Methotrexate. 2012;94:187–207, <http://dx.doi.org/10.1002/bdra.23003>
53. Corona-Rivera J.R., Rea-Rosas A., Santana-Ramirez A., Acosta-Leon J., Hernandez-Rocha J., Miguel-Jimenez K.: Holoprosencephaly and genitourinary anomalies in fetal methotrexate syndrome. *Am. J. Med. Genet. A.* 2010;152A(7):1741–1746, <http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.a.33496>
54. Fermion Oy: Safety data sheet; czerwiec 2013 [cytowany 12 września 2014]. Adres: <http://www.fermion.fi/Global/Fermion/Fermionin%20uusi%20verkkosivu/MSDS/Methotrexate%20diNa.pdf>
55. Pfizer: Material safety data sheet. Methotrexate tablets; marzec 2012 [cytowany 12 września 2014]. Adres: http://www.pfizer.com/sites/default/files/products/material_safety_data/PZ00130.pdf
56. Murff S.J.: Safety and health handbook for cytotoxic drugs. Summary of internal OEL for cytotoxic drugs. Government Institutes, Plymouth 2012
57. American Pharmaceutical Partners, Inc: Material safety data sheet maj; 2005 [cytowany 12 września 2014]. Adres: <https://secure.mypss.com/catMaintDataServlet?existingFileId=2473>
58. Santa Cruz Biotechnology, Inc: Methotrexate. Safety data sheet; kwiecień 2010 [cytowany 12 września 2014]. Adres: <http://datasheets.scbt.com/sc-3507.pdf>
59. Bedford Laboratories: Material safety data sheet. Ben Venue Laboratories, Inc 2007 [cytowany 12 września 2014]. Adres: http://www.bedfordlabs.com/content/dam/internet/opu/bedfordlabs/com_EN/documents/products/Methotrexate/MethotrxateRev307.pdf
60. Rozporządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 19 czerwca 1996 r. w sprawie bezpieczeństwa i higieny pracy przy przygotowywaniu, podawaniu i przechowywaniu leków cytostatycznych w zakładach opieki zdrowotnej. *DzU z 1996 r. nr 80, poz. 376 z późn. zm.; DzU z 2000 r. nr 79, poz. 897*
61. Smeland E., Bremnes R.M., Andersen A., Jaeger R., Eide T.J., Huseby N.-E. i wsp.: Renal and hepatic toxicity after high-dose 7-hydroxymethotrexate in the rat. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1994;34:119–124