

MILTON ARTUR RUIZ

Este exemplar corresponde à
versão final da Tese de Doutorado a-
presentada à Faculdade de Ciências
Médicas da UNICAMP pelo médico
Milton Artur Ruiz.

Campinas, 26 de maio de 1989.

Prof. Dr. ~~Carminato~~ Antonio de Souza
- Orientador -

"ESTUDO MORFOLÓGICO DA MEDULA ÓSSEA EM PACIENTES
NEUTROPÊNICOS DA INDÚSTRIA SIDERÚRGICA
DE CUBATÃO, ESTADO DE SÃO PAULO"

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas - UNICAMP
para obtenção do grau de Doutor
em Medicina Interna.

CAMPINAS 1989

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

MILTON ARTUR RUIZ

Tese de Doutorado

"ESTUDO MORFOLÓGICO DA MEDULA ÓSSEA EM PACIENTES
NEUTROPÊNICOS DA INDÚSTRIA SIDERÚRGICA
DE CUBATÃO, ESTADO DE SÃO PAULO"



Orientador de Tese: Dr. Cármino Antonio de Souza

CAMPINAS 1989

AGRADEÇO

CÁRMINO ANTÔNIO DE SOUZA, amigo e irmão
ANGELO SEMENTILLI e equipe Anatomia Patológica
JOSÉ VASSALLO e IRENE LORAND-METZE
LIA GIRALDO SILVA AUGUSTO e equipe do CESAT
MARIA SIMÕES NIEVES e equipe do IHH
SINDICATO DOS METALÚRGICOS DE SANTOS
ROSANGELA DA GRAÇA FOSSA QUERINO DE CARVALHO

e peço desculpas

a meus pais, MILTON e GIOCONDA
as vítimas TEO, AUGUSTA, RENATA e ELIZA
aos que porventura tenham sido esquecidos

ÍNDICE

I	INTRODUÇÃO	6
	O Estudo da Medula Óssea	6
	Os Agentes Mielotóxicos	11
	O Benzeno	12
	A Indústria Siderúrgica e a Leucopenia	20
II	OBJETIVOS	22
III	CASUÍSTICA E MÉTODOS	24
IV	RESULTADOS	29
V	DISCUSSÃO	53
VI	CONCLUSÕES	61
VII	RESUMO	64
VIII	SUMMARY	67
IX	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
X	APÊNDICES	85

I - INTRODUÇÃO

O ESTUDO DA MEDULA ÓSSEA

A medula óssea é o tecido no qual se produzem os elementos figurados do sangue, a partir do 4º mês de vida fetal em substituição progressiva ao baço e ao fígado. A partir do nascimento, este tecido torna-se exclusivo no cumprimento desta função, exceto em situações patológicas, quando a hemopoiese pode ser reassumida por aqueles órgãos (Bernard, 1976).

Na criança a medula óssea ativa vermelha, distribui-se universalmente por todos os ossos, enquanto que no adulto, por substituição por tecido adiposo, esta função permanece unicamente nos ossos chatos e extremidades dos ossos longos. Os ossos que permanecem com função hemopoética no adulto são os ilíacos; as vértebras; os ossos do crânio; a mandíbula; o maxilar superior e o esterno, por ordem de magnitude de superfície (Wintrobe, 1967). A medula óssea compreende cerca de 3,4% a 5,9% do peso corporal de um indivíduo adulto e é equivalente a aproximadamente 600 a 1000 g de medula vermelha ativa (Wintrobe, 1981; Jandl, 1987).

O estudo da medula óssea é útil no diagnós-

tico e acompanhamento de doenças hematológicas; bem como na classificação e estadiamento, de neoplasias (Hernandez, 1980; Krause, 1981; Bartl, 1984; Georgii, 1984; Tricot, 1984; Rodriguez Fernandez, 1984; Souza, 1986; Wickramasinghe, 1986).

Pianesi (1903) foi o primeiro pesquisador a obter através de um trocater fragmentos de medula óssea, procedimento este acompanhado por Ghedini (1908), com finalidade precípua de estudar o tecido medular (Wintrobe, 1981).

Seyfarth (1923) utilizou fragmentos do esterno, e enfatizou a escolha desse local por considerá-lo acessível, de pequena espessura e, por saber que o mesmo albergava a medula hemopoiética (Jandl, 1987).

Arinkin (1929) introduziu o método da punção aspirativa da medula óssea para o estudo citológico, propiciando o reconhecimento e descrição das células precursoras. A partir de então, este procedimento incorporou-se à prática clínica e com o emprego de técnicas citoquímicas, ocorreu grande avanço no conhecimento das células constituintes do tecido medular (Wintrobe, 1981).

Macfarland (1958) utilizando a agulha de Silverman, retirou um fragmento ósseo, com a finalidade de estudar o mesmo procedimento com a agulha de Westerman-Jensen, descreveu as suas vantagens, isto é, ser mais durável e obter maior quantidade de material medular, o que possibilitava um maior número de cortes e de colorações histológicas.

Jamshidi (1971) introduziu uma nova agulha de biópsia de medula que apresentava a vantagem de ser con-

fortável ao manuseio, menos traumática e que, pelo seu desenho, conseguia boa quantidade de material medular, além de boa preservação dos fragmentos.

Inwood (1975) introduziu modificações na agulha original de Jamshidi e conseguiu melhorias na obtenção do material medular. Existem desde então para uso clínico agulhas de inúmeras procedências. Tais instrumentos atualmente apresentam boa resolução e popularizaram o procedimento.

Na prática clínica existem três métodos para obtenção do material para o estudo da medula óssea: a punção aspirativa (o mielograma); a biópsia de medula óssea (BMO), através de agulhas especiais e a biópsia a céu aberto, através de procedimento cirúrgico. Para os estudos morfológicos da medula óssea, a punção aspirativa até recentemente era o procedimento de escolha. Tal procedimento simples e confortável, propicia o diagnóstico das hemopatias, além de ser um bom método de seguimento dos pacientes (Krause, 1982; Wickramasinghe, 1986).

Wintrobe (1981) cita que o método de obtenção da medula óssea através de aspiração, é menos desconfortável e penoso para os pacientes, quando comparado à biópsia de medula. Conseqüentemente a BMO não deveria ser realizada antes da aspiração e além disso, somente seria um método de informação adicional. Esta conduta associada às técnicas de descalcificação, que provocam artefatos no parênquima medular e a boa realização da punção aspirativa, fizeram com que clínicos e hematologistas preferissem esta técnica, ficando a biópsia medular restrita e pouco utilizada (Krause, 1981).

Gruppo (1977) ao estudar 244 biópsias de medula óssea em pacientes portadores de anemia aplástica, observou que ao compará-la à punção aspirativa, encontrava a celularidade equivocadamente interpretada pela citologia em 40% dos casos. Concluiu que a biópsia de medula óssea, é um excelente indicador do grau de celularidade medular e superior à punção aspirativa na observação deste parâmetro.

Esta observação foi posteriormente corroborada por outros autores, emergindo então o conceito de que, a maioria das hemopatias são na realidade mielopatias e, mesmo moléstias que primariamente não são hematológicas, podem apresentar repercussão à nível de medula óssea (Hernandez, 1980).

A simplicidade e a eficácia da obtenção do tecido medular por biópsia além do aperfeiçoamento dos métodos histológicos, atenuantes dos problemas do processamento, e dos estudos que demonstraram a superioridade da biópsia de medula óssea, fizeram reviver o procedimento a partir da década de 80 (Krause, 1981; Burkhardt, 1982).

São exemplos desta superioridade no diagnóstico de mielofibrose de várias causas, mieloesclerose idiopática e em situações em que a punção aspirativa redonda grumos escassos (Wickramasinghe, 1986).

Nos linfomas, a natureza focal de algumas lesões, faz com que frequentemente as agulhas de punções atinjam locais indenes. Isto propicia resultados normais quando, na verdade, podemos estar frente a uma medula óssea comprometida pela moléstia (Gruppo, 1977; Bartl, 1982; Souza, 1986).

Pasquale (1986) comparou os métodos de pun-

ção aspirativa à biópsia de medula óssea e ao método de aposição ("imprints") de fragmento ósseo, com finalidade de observar a acuidade dos três métodos. Observou que em 52 casos, para estadiamento do comprometimento medular em neoplasias não hematológicas, tomando-se como base a positividade de 100% na BMO, obteve sensibilidade de 90% nos "imprints" e somente 33% na aspiração. O mesmo autor relatou que, no estadiamento de 36 casos de linfomas não Hodgkin, a positividade para as células malignas envolvendo a medula óssea foi de 92% na BMO, 69% nos "imprints" e apenas 23% nos aspirados.

Atualmente, está indicada a BMO na aplasia medular, nas síndromes mieloproliferativas, nos linfomas, no mieloma múltiplo, nos carcinomas metastáticos, nas doenças de depósito (Duhamel, 1974; Bruning, 1975; Ellman, 1976; Gruppo, 1977; Gopal, 1980; Krause, 1981, 1982, 1983; Lorand-Metze, 1986; Wickramasinghe, 1986).

A BMO é geralmente aceita como essencial, para o estadiamento clínico dos linfomas de Hodgkin, dos não-Hodgkin e as biópsias seriadas são de extrema utilidade, para avaliação da eficiência da quimioterapia empregada no tratamento de linfomas e leucemias (Hiddemann, 1982; Souza, 1985, 1986).

Virtualmente não existem contra-indicações para a realização da BMO, pois a mesma tem sido inclusive empregada em portadores de doenças hemorrágicas sem observação de danos imediatos ou posteriores (Krause, 1981).

A BMO tem indicação precisa, na avaliação da celularidade medular e no diagnóstico de moléstias que infiltrem o tecido medular. Apesar de sua superioridade, o

estudo medular, deve ser realizado associando-se os métodos descritos, com a finalidade de complementar as vantagens que os recursos apresentam isoladamente (Gruppo, 1977).

OS AGENTES MIELOTÓXICOS

A redução da atividade hemopoiética, pode ocorrer secundariamente, pela ação de agentes mielotóxicos ocasionais ou regulares doses dependentes (Oliveira, 1971; Gruchy, 1975; Oliveira, 1985). Dentre os agentes mielotóxicos, encontramos inúmeros medicamentos utilizados e que podem ser responsáveis por alterações hematológicas, ou doenças hematológicas (Bithell, 1967; Oliveira, 1971; Gruchy, 1975; Wintrobe, 1981; Williams, 1983; Oliveira, 1985). Nestes agentes descritos, e que podem ser responsáveis por aplasias seletivas ou globais, encontramos os antimicrobianos, antihistamínicos, sedativos, inseticidas, além de inúmeros outros (Williams, 1983; Oliveira, 1985).

Um dos mecanismos de agressão dos medicamentos, a nível de medula óssea é a hipersensibilidade não relacionada à uma ação farmacológica conhecida. Ocorrem geralmente após uma segunda exposição, pelo uso de pequenas doses e, são eventualmente, de natureza imunológica (Gruchy 1975; Williams, 1983; Oliveira, 1985; Jandl, 1986).

O segundo mecanismo possível é o farmacogenético. É determinado por metabolismo anormal e ocorre comumente após a primeira dose do medicamento (Gruchy,

(1975).

São considerados agentes mielotóxicos regulares o benzeno e seus derivados; as radiações ionizantes; a mostarda nitrogenada e os antimetabólitos (Wintrobe, 1981; Oliveira, 1985).

O BENZENO

O benzeno é um hidrocarboneto aromático, que apresenta características e propriedades bem determinadas. A fórmula química do benzeno é C_6H_6 , o peso molecular é de 78,114, o ponto de ebulição à pressão de 760 mm/Hg é de 80,1°C e o ponto de fusão a 5,5°C. É um líquido volátil que apresenta cheiro agradável e sabor familiar ao do açúcar. É pouco solúvel na água e apresenta alta solubilidade no álcool, éter e acetona. Dissolve o enxofre, o fósforo, o iodo e grande número de matérias orgânicas como a cera, a cânfora, a guta percha, os ácidos aromáticos e os alcalóides (Ayers, 1964; IARC, 1974).

O benzeno foi isolado por Faraday (1825) e a sua obtenção foi realizada através do benzoato de cálcio, por Mitscherlich (1833) (IARC, 1974). A síntese do benzeno, através de polimerização do acetileno, foi realizada por Berthelot (1866). Tradicionalmente, a obtenção do benzeno é a partir do carvão coque e, desde 1941, primordialmente a partir do petróleo (IARC, 1974). Mendes (1987) relata em uma revisão que, do benzeno derivam inúmeros produtos in-

intermediários utilizados pela indústria petroquímica, como matéria-prima. Os principais são o etilbenzeno, o cumeno, o ciclohexano e o nitrobenzeno. Aproximadamente 50% da produção mundial do benzeno é destinada à produção do etilbenzeno que, é convertido em estireno. O estireno tem largo emprego na indústria automobilística e de plástico em geral, além de participar da produção do poliestireno, de resinas, de elastômeros e de resinas insaturadas de poliésteres. É ainda, matéria-prima para produção de copos plásticos, brinquedos, e capacetes de segurança.

O cumeno ou isopropilbenzeno, é o segundo produto intermediário em importância industrial e equivale a 20% da demanda total do benzeno. É do cumeno que resulta o fenol e o seu subproduto, a acetona. Derivam do fenol as resinas acrílicas e a caprolactana, ambas necessárias à fabricação de fibras de nylon e outros solventes.

O ciclohexano é o produto responsável por 15% da demanda total do benzeno e destina-se à produção do caprolactano, do ácido adípico e do hexametilenodiamino, todos utilizados na manufatura do nylon e da obtenção de resinas importantes para a indústria têxtil.

O alquilbenzeno é utilizado na produção de detergente e, corresponde a 3% do benzeno à nível mundial.

O anidromaleico é utilizado na produção de resinas e de produtos químicos para a agricultura.

O clorobenzeno é o intermediário da produção de pesticidas e inseticidas (DDT), de drogas antidiabéticas e de preservativos de madeira (Mendes, 1987).

A participação do benzeno na indústria é extensa, sendo o mesmo utilizado como solvente ou cola nas

indústrias de couro natural e sintético, na borracha sintética, na solda, no bronzeamento e prateamento de metais, na remoção de tintas e vernizes, na indústria gráfica, na rotogravura, na litogravura, na fotografia, na lavagem à seco, nas fábricas de sapato, de tintas, de solventes, de colas e de plásticos em geral (CEFFIC, 1985).

A absorção do benzeno, no homem, ocorre principalmente através da inalação do vapor e, secundariamente através da pele pelo contato com a forma líquida (CEFFIC, 1985; Moraes, 1987). O benzeno absorvido é expelido para o ar em percentuais que variam entre 10% a 50% do total inalado (Snyder, 1981). O benzeno que não é exalado penetra na circulação do sangue, e é metabolizado no fígado ou deposita-se em órgãos que contenham grande quantidade de gordura, como por exemplo a medula óssea (Jerina, 1974).

A metabolização acontece por duas vias, antes de sua excreção pela urina. Uma não enzimática, que resulta na produção de fenol ligada ao ácido glicurônico e sulfato, que constituirá o principal metabólito do benzeno excretado. Por esta via, derivam mais dois metabólitos: o hidroquinol e o 1, 2, 4 trishidroxibenzeno, excretado em pequena quantidade na urina. A outra forma de metabolização é, aquela realizada através da via enzimática da monoxigenase, que transforma o benzeno inalado em epóxido intermediário, considerado responsável pelo dano medular e alterações hematológicas nos portadores de benzenismo. Isto se deve à ligação deste intermediário à macromoléculas, como ao ácido desoxiribonucleico (DNA) e outras proteínas.

A biotransformação metabólica do benzeno "in vivo" está esquematizada no apêndice. A excreção do benzeno

inalado é extremamente rápida, calculada em 24 a 48 horas após a exposição, e tem uma vida biológica de 12 horas. Os seus metabólitos atuam diretamente a nível de medula óssea (Deichman, 1963; Andrews, 1977; Snyder, 1981; Moraes, 1987).

Este fato decorre das observações da presença, em excesso, de metabólitos e de produtos da biotransformação do benzeno no tecido mielóide (Parke, 1953; Gerarde, 1966; Andrews, 1977; Goldstein, 1987; Snyder, 1981).

Existem relatos da presença do benzeno nos tecidos com grande quantidade de gordura, e na medula óssea, vários dias após a exposição (Snyder, 1981).

Seiling (1916) apresentou o primeiro trabalho com coelhos em que demonstrou os efeitos leucotóxicos do benzeno.

Lignac (1932) relatou a ocorrência de oito casos de leucemia em um grupo de camundongos, nos quais foram injetados 0,001 ml de benzeno subcutâneo, semanalmente, por um período de 17 a 21 semanas, com dose total de 1 mg/kg.

Kirschbaum (1942) repetindo o mesmo experimento em camundongos 20 F, observou a ocorrência de leucemia em 30% no grupo dos expostos, contra 14% no grupo controle. Este dado não foi considerado estatisticamente significativo.

Amiel (1960); Deichman (1963); Hiraki, (1963) e Ward (1975) realizaram experimentos semelhantes sem que também obtivessem resultados significantes.

Santana (1987) realizou experimento com

camundongos da raça Suíça, administrando injeções subcutâneas de benzeno na dose de 2 ml/kg, três vezes por semana, em dias alternados, durante 20 semanas. Os resultados demonstraram redução na concentração de hemoglobina, no número de leucócitos, granulócitos e linfócitos nos animais tratados, quando comparados aos animais de grupo de controle. A estimativa da celularidade da medula óssea dos animais tratados não demonstrou diferença significativa, existindo, no entanto, alterações histológicas importantes no baço destes camundongos.

Burdette (1941); Baldwin (1961); Coombs (1966) e Laerum (1973) utilizando soluções de benzeno na pele de diversos animais não obtiveram moléstias ou tumores.

Modelos experimentais, utilizando vapores de benzeno são importantes, por ser a via inalatória a forma da exposição humana. Wolf (1956) observou leucopenia em ratos, cobaias e coelhos em experimentos que utilizaram concentrações de 0,28 mg/l ou seja, 88 partes por milhão (ppm). Esta alteração ocorreu após 269 dias de exposição.

Deichman (1963) relatou a presença de leucopenia em ratos expostos a 0,14 mg/ml (44 ppm) de benzeno, cinco horas ao dia, quatro vezes por semana, por sete semanas.

Jenkins (1970) não observou alterações no sangue periférico de ratos, cobaias ou cachorros expostos continuamente a 0,056 mg/l (17,6 ppm) por 127 dias.

Cronkite (1985) ao expor ratos C5 7B_{1/6} BNL à concentração de 10, 25, 100, 300 e 400 ppm. Observou que a partir de 100 ppm por seis horas, cinco dias por

semana, ocorria uma redução da celularidade medular e do número de células primitivas pluripotentes da medula óssea.

Maltoni (1983) observou maior incidência de carcinoma das glândulas de Zymbal, carcinoma mamário e leucemia, além de outras neoplasias menos freqüentes em ratos Sprague-Dawley que, receberam benzeno pelo tubo digestivo proporcional entre as doses de exposição e aparecimento de neoplasias.

Flury (1928) descreveu óbitos após cinco a dez minutos de exposição a concentração de 66 mg/l (20000 ppm) de benzeno.

Sintomas de perda de consciência, de batimentos cardíacos irregulares, de tontura, de cefaléia e náusea têm sido relatados em pacientes expostos (Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1974).

Winek (1971) observou em autópsias de pacientes submetidos a intoxicações agudas; inflamação no aparelho respiratório, hemorragia pulmonar, edema renal e cerebral.

Goldstein (1977) responsabiliza o benzeno por alterações hematológicas em trabalhadores expostos em suas atividades ocupacionais.

Dameshek (1959); IARC (1974) e Wakamatsu (1976) citam Santesson (1897) que incriminou o benzeno por doença ocupacional em quatro trabalhadores de uma fábrica de bicicletas, na Suécia, que contraíram púrpura hemorrágica.

As alterações hematológicas descritas em expostos cronicamente ao benzeno são diversas: a anemia, a macrocitose, a leucopenia, a neutropenia, a eosinofilia, a

Linfocitopenia e a monocitopenia estão entre as alterações observadas (Aksoy, 1971; Moszczynski, 1982; Hancock, 1984).

Bolcsak (1983) relata que o benzeno e seus metabólitos são responsáveis pela inibição da eritropoiése no homem.

As alterações cromossomiais devido à ação do benzeno são inúmeras. Tais anormalidades não apresentam caráter sistemático, sendo descritas as quebras, os intercâmbios e outras aberrações (Forni, 1967; Forni, 1969; Forni, 1971).

Ainda em relação às anormalidades cromossomiais, uma revisão realizada por Forni (1979) sintetiza as alterações pela ação do hidrocarboneto.

Os efeitos do benzeno em trabalhadores expostos, além dos já descritos, são as de redução do número de linfócitos T e, não-T, não-B; redução da atividade da fosfatase ácida e da N-acetyl beta-D-Glucosaminidase nos linfócitos do sangue periférico (Moszczynski, 1982; 1983b, 1984).

Moszczynski (1983a) descreve ainda alterações no teste do nitroblue-tetrazolium (NBT).

A associação entre benzeno e leucemia foi sugerida por Delore (1928), ao descrever um caso de leucemia linfóide aguda, em trabalhador exposto continuamente a hidrocarboneto, por um período de cinco anos.

Bowditch (1939); Hunter (1939) e Mallory (1939), relataram inúmeros casos de hemopatias malignas em trabalhadores expostos.

Mallory (1939) relatou 19 casos de discrasias sanguíneas em trabalhadores que haviam experimentado

longa exposição ao benzeno comercial. O diagnóstico destes casos foi realizado em 14 trabalhadores através de autópsia e em quatro através de biópsias. Destes pacientes, dois eram portadores de leucemia aguda: uma do tipo mielóide em um homem, adulto, de 28 anos; e outra do tipo linfóide em um menino de 12 anos de idade. Os outros pacientes eram portadores da "síndrome purpúrica" com anemia, leucopenia e trombocitopenia. Tais trabalhadores tiveram exposições que variavam entre 100 a 200 ppm e desempenhavam funções diversas.

De Gowin (1963) relatou o caso de um paciente com leucemia mieloblástica com diagnóstico prévio de anemia aplástica, possivelmente por exposição ao benzeno.

Tareeff (1963), na União Soviética, descreveu 16 casos de hemopatias malignas em trabalhadores expostos ao benzeno, sendo 6 leucemias agudas e 10 leucemias crônicas. Em três leucemias agudas descritas, o diagnóstico, foi firmado de três a cinco anos, após cessada a exposição ao benzeno.

Vigliani (1964) em um período de 18 anos descreveu inúmeros casos de discrasias sanguíneas. O tempo e o grau de exposição ao benzeno, além da função desempenhada pelos pacientes no trabalho foram extremamente variadas.

Aksoy (1972) descreveu quatro casos de leucemias em trabalhadores da indústria de calçados expostos ao benzeno em Istambul. Três, apresentavam leucemia mieloblástica aguda e um com leucemia monocítica aguda. O autor demonstrou um aumento de incidência de casos de leucemias agudas nesta indústria durante um certo período de

observação. Relatou também que houve uma redução sensível desta incidência quando da retirada do benzeno do ambiente de trabalho.

A INDÚSTRIA SIDERÚRGICA E A LEUCOPENIA

O município de Cubatão localiza-se no Estado de São Paulo e possui uma população de 85.000 habitantes em uma área de 148 km². Foi escolhido na década de 50 para abrigar um grande parque industrial. A decisão ocorreu porque o município situa-se perto da cidade de São Paulo e do porto de Santos, um dos mais bem equipados da América do Sul (Kucinski, 1982; Braghetta, 1984). O início desta implantação ocorreu com a refinaria Presidente Bernardes, primeira indústria de refino de petróleo da Petrobrás em território paulista. Logo após, inúmeras outras indústrias foram implantadas na região iniciando em 1959, no vale do rio Mogi, a construção da Companhia Siderúrgica Paulista - COSIPA. Suas atividades iniciaram-se em 1963.

A partir de 1979, inúmeros trabalhadores desta indústria siderúrgica começaram a procurar atendimento médico. Apresentavam queixas vagas e comuns a inúmeras doenças (Ruiz, 1985). Estes pacientes apresentavam alterações hematológicas no sangue periférico, cujo dado quantitativo freqüentemente observado era leucopenia devido a neutropenia absoluta (Ruiz, 1985).

Em 1980, a Companhia Siderúrgica já havia

solicitado à Fundação Jorge Duprat Figueiredo de Segurança e Medicina do trabalho, a realização de estudos em suas dependências no sentido de avaliar áreas insalubres e perigosas. A conclusão do estudo foi que, a situação ambiental em relação ao benzeno encontrava-se descontrolada (Cosipa, 1985). Foram sugeridas diversas medidas de proteção aos trabalhadores diretamente expostos. A partir de então, exames hematológicos e dosagens de fenol urinário foram realizados pela indústria em seus trabalhadores.

Augusto (1984) relatou que 680 trabalhadores da indústria siderúrgica encontravam-se afastados de suas atividades por apresentarem leucopenia. A empresa, organizou então um grupo de trabalho para o estudo da leucopenia (Cosipa, 1985).

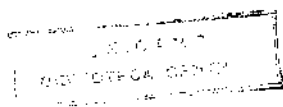
O estudo demonstrou uma universalidade de distribuição de casos em toda a usina. Foram afastadas nestes trabalhadores, causas não ocupacionais como responsáveis pela alteração hematológica. Concluiu também que, o problema relacionava-se com o gás de coqueria ao qual estavam expostos os trabalhadores afastados (Cosipa, 1985).

Baseado nos relatos apresentados sobre a importância do benzeno como agente mielotóxico, do número de trabalhadores afastados de suas funções, é que objetivamos estudar a medula óssea de um grupo destes pacientes.

II - OBJETIVOS

O presente estudo foi delineado com os seguintes objetivos:

- 1.a Estudar histologicamente a medula óssea obtida por biópsia de agulha, em pacientes neutropênicos, de uma indústria siderúrgica, localizada em Cubatão, em São Paulo, com descrição dos aspectos do estroma, e do tecido hematopoiético.
- 1.b Caracterizar, através de colorações especiais, detalhes da arquitetura medular, e das células hematopoiéticas.
2. Correlacionar os dados obtidos pelo estudo histológico àqueles obtidos por estudo citológico, por aspiração ou "imprints".
3. Correlacionar os dados clínicos, e hematológicos do sangue periférico àqueles obtidos pela biópsia de medula óssea.
4. Determinar a frequência das alterações hematológicas do sangue periférico, nos pacientes participantes do estudo.



III - CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram analisados 95 pacientes, todos trabalhadores da indústria siderúrgica, do sexo masculino com idade entre 20 e 60 anos. Os pacientes admitidos para estudo apresentavam o número dos neutrófilos inferior a 2000/dl. Ao interrogatório, não revelavam antecedentes de uso de medicamentos ou qualquer tratamento clínico ou cirúrgico nos últimos seis meses. Além disso, negaram doença aguda ou crônica no mesmo período.

Além destes dados foram também pré-requisitos para inclusão neste estudo uma avaliação laboratorial complementar revelando: velocidade de hemossedimentação das hemáceas (VHS) e contagem de reticulócitos, dentro dos padrões de normalidade (Dacie, 1975) e exame parasitológico de fezes negativo.

Os pacientes foram submetidos a exame clínico e a coleta de uma amostra de sangue. Tal procedimento foi realizado por punção venosa, pela manhã, em jejum, na posição sentada, sem antecedente de trabalho noturno na noite anterior além de, estarem sem atividade física prévia a essa coleta. Obteve-se de cada paciente 5 ml de sangue, que foi colocado em frasco de vidro com EDTA a 10% para determinação hematimétrica global. Foram realizadas duas extensões de sangue periférico, em lâminas de vidro, para a contagem diferencial de leucócitos. Para obtenção dos valores eritrocitários e leucocitários, foi utilizado o contador automático eletrônico de partículas CELM - c 510. A diluição das amostras foi realizada através do diluidor automático CELM modelo DA 500. O equipamento foi controlado diariamente e aferido segundo as normas do fabricante. A determinação do hematócrito foi feita pelo método do micro-

hematócrito e a dosagem da hemoglobina realizada através de espectrofotometria, pelo método da cianometahemoglobina (Frankel, 1970).

A contagem diferencial dos leucócitos, foi feita nas extensões de lâminas coradas pelo método de Romanovsky. Foram contadas 100 células de cada amostra e os resultados plotados em número absoluto (Wintrobe, 1981).

A VHS foi realizada pelo método padronizado de Westergreen (Miale, 1972).

A contagem de reticulócitos foi realizada em extensões de lâminas coradas pelo azul de cresil brilhante a 2% (Miale, 1972).

Após preencherem os pré-requisitos previamente definidos os pacientes foram submetidos a BMO, com agulhas de Jamishidi ou similar, adulto-regular. O local de punção foi na espinha ilíaca posterior-superior.

Os espécimes obtidos apresentavam de 1,5 a 3 cm de comprimento e foram fixados inicialmente em formol a 10% e processados histologicamente após 24 horas da sua obtenção. Os fragmentos foram descalcificados em ácido nítrico a 5% e lavados posteriormente em água corrente por 24 horas. A inclusão dos espécimes foi feita em parafina, e posteriormente realizaram-se cortes com espessura de 3 a 4 μ , que foram corados pela hematoxilina-eosina (HE).

Foram realizados cortes histológicos adicionais para reações histoquímicas pelos métodos de Perls, e Periodic Acid Schiff (PAS) e impregnação pela prata pelo método de Gomori. Tais procedimentos tinham o objetivo de avaliar a quantidade de ferro medular, arcabouço de reticulina e melhor visualização dos plasmócitos e mastócitos.

Em 33 casos foi colhido material para o estudo citológico de medula óssea. Em 10 realizou-se punção aspirativa, e nos 23 restantes por aposição ("imprint") concomitantemente à biópsia. A coloração foi realizada pelo método de Romanovsky e efetuada contagem diferencial entre 300 células do material medular (Wintrobe, 1981).

Os cortes histológicos foram analisados adotando-se os seguintes critérios descritivos dos resultados:

1. A coloração HE, observou-se o tecido ósseo, presença de edema, e hemorragia. Convencionou-se de 0 a 3 as diversas intensidades das alterações. Assim sendo: 0 = normal; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = intensa. Aumento (+), e reduzido (-) ao lado do número relativo às intensidades.
2. Através desta coloração, observou-se a celularidade global, o tecido gorduroso, a celularidade dos setores eritroblástico, granulocítico, eosinofílico e megacariocítico. Utilizou-se as notações de: 0 = normal; D = diminuído; A = aumentado. As alterações de celularidade foram convencionadas em 1 = leve; 2 = moderado; 3 = intensa. As alterações observadas nesta coloração foram correlacionadas com os dados observados à citologia.
3. A impregnação pela prata (método de Gomori) procedeu-se para avaliação de fibrose reticulínica, utilizando-se a seguinte notação quantitativa: N = normal; A = aumentado; Fo = aumento focal; Di = aumento difuso.

4. A reação para avaliação quantitativa do ferro medular (método de Perl's) adotou-se a seguinte notação: N = não aumentado; A = aumentado.
5. A reação para avaliação histológica pelo método de PAS adotou-se a seguinte notação; N = sem particularidades; A = anormal.

O estudo citológico foi realizado adotando-se os seguintes critérios:

1. A celularidade global, foi determinada pela análise das espículas ósseas, e adotou-se a seguinte notação: N = normal; A = aumentado; D = diminuído. A intensidade de elevação (+) ou diminuição (-) da celularidade foi convencionalizada em: 1 = leve; 2 = moderado; 3 = intenso.
2. A celularidade das séries eritroblástica; granulocítica (neutrofílica e eosinofílica); linfoplasmocitária e megacariocítica, foram obtidas após contagem diferencial de 300 células, e assinaladas as suas respectivas percentagens (Wintrobe, 1981).
3. Foi determinada a relação entre as séries granulocítica e eritroblástica (relação G/E). A análise citológica buscou ainda o reconhecimento de anormalidades qualitativas citomorfológicas.

As técnicas estatísticas utilizadas foram descritivas, gráficos em colunas, polígonos de frequência e análise de dados categorizados (Mathews, 1985).

IV - RESULTADOS

A distribuição racial dos pacientes mostrou 42 (44,2%) caucasóides e 53 (55,8%) negróides.

No gráfico I, encontram-se os dados de distribuição etária dos pacientes estudados. A média dos pacientes foi de 34,684 anos, com mediana de 33 e desvio padrão de 6,8.

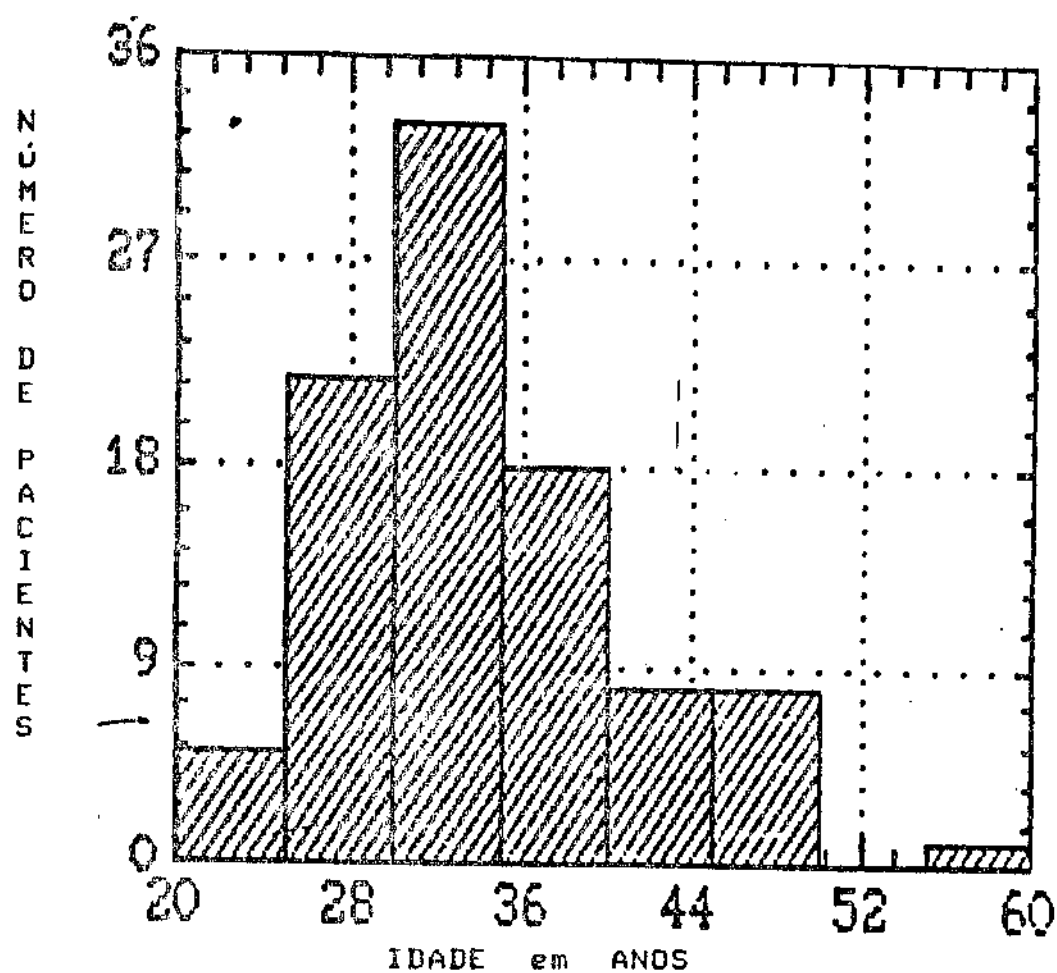
A indústria siderúrgica apresenta vários locais de trabalho denominadas de gerências. As "gerências" que apresentam maior número de pacientes são: a coqueria (GCC) (33,7%); a laminação (GLM) (18,9%) e a aciaria (GAC) (12,6%). O gráfico II, apresenta a distribuição por "gerências" de atividade onde os pacientes exerciam suas funções de trabalho.

No gráfico III, estão expostos os dados referentes ao tempo de atividade dos pacientes na indústria siderúrgica no momento do estudo. A média do tempo de atividade desses pacientes foi de 7,3 e a mediana 7,0 anos.

Os sintomas encontrados nos pacientes eram vagos e inespecíficos. Observou-se em 60% dos pacientes, astenia, mialgia, sonolência, quadros gripais de repetição além da presença constante de estomatites e tontura. Ao exame físico somente um paciente apresentava palidez.

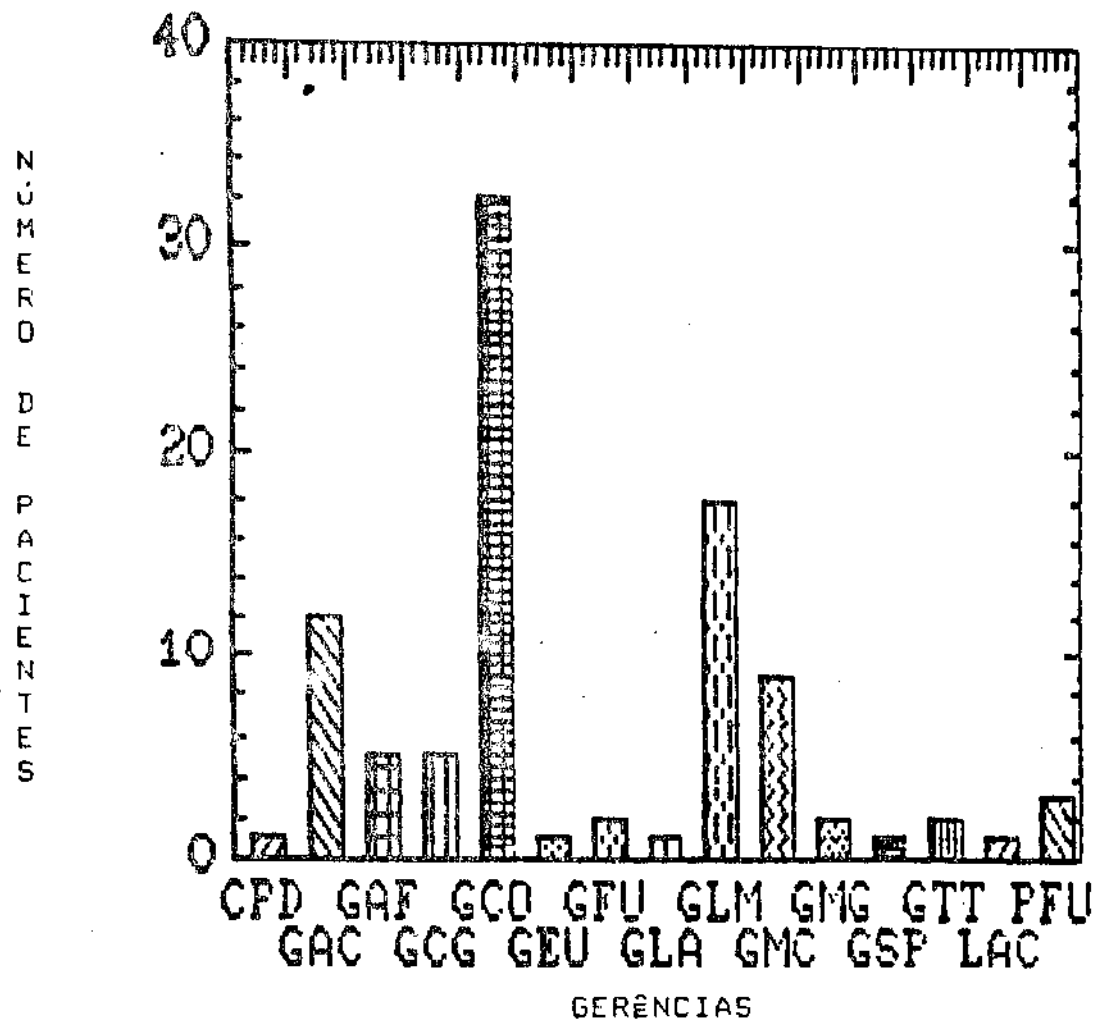
O estudo do sangue periférico revelou:

1. A hemoglobina e hematócrito de sete pacientes (7,4%) estavam abaixo dos valores normais (tabela I). Em relação aos índices hematimétricos, o aumento do volume corpuscular médio acima de 93 fl., ocorreu em 18 pacientes (18,9%) (tabela I). A hemoglobina corpuscular média e a concentração da hemoglobina corpuscular média



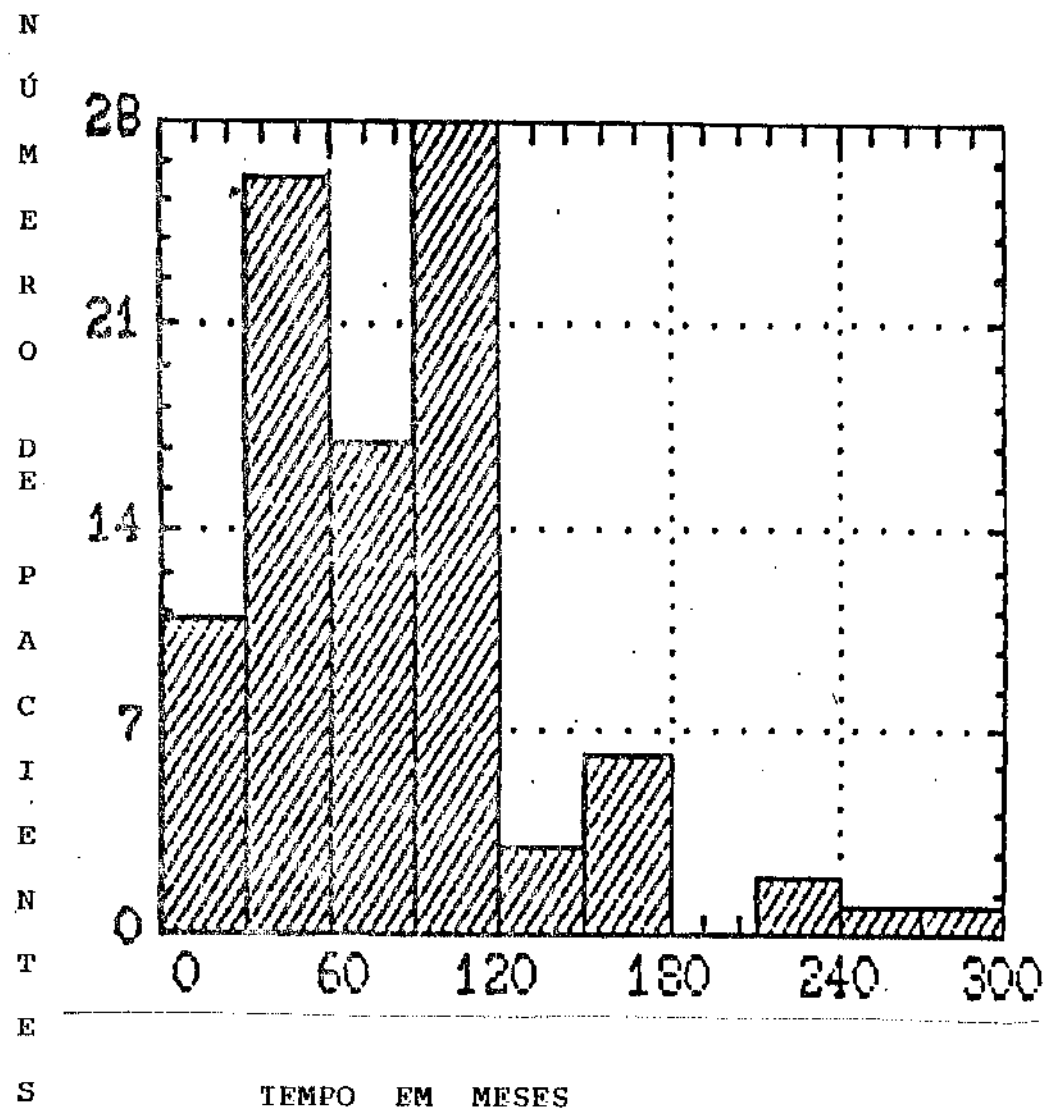
MÉDIA - 34,684 anos
DESVIO PADRÃO - 6,8031 anos
MEDIANA - 33 anos

GRÁFICO I - Distribuição etária dos 95 pacientes participantes do estudo



CPD - Centro de Processamento de Dados
 GAC - Gerência de Aciária
 GAF - Gerência de Forno
 GCG - Gerência de Chapas Grossas
 GCO - Gerência de Coqueria
 GEU - Gerência de Energia e Utilidades
 GFU - Gerência de Fundição
 PFU - Prefeitura
 GLA - Gerência de Laboratório
 GLM - Gerência de Laminação
 GMC - Gerência de Manutenção Central
 GMD - Gerência de Manutenção Geral
 GSP - Gerência de Segurança Patrimonial
 GTT - Gerência de Transportes
 LAC - Laboratório de Análises Clínicas

GRÁFICO II - Distribuição dos 95 pacientes, segundo local de atividade(gerências) na indústria siderúrgica.



MÉDIA - 87,137 meses
DESVIO PADRÃO - 54,409 meses
MEDIANA - 84 meses

GRÁFICO III - Tempo de atividade, em meses, dos 95 pacientes

não apresentaram alterações significativas.

2. O número de leucócitos foi abaixo de 4000/dl em 54 pacientes (57,9%) (tabela II). O número de granulócitos foi abaixo ou igual a 2000 em 100% (95 casos).
3. Na contagem diferencial dos leucócitos, além da neutropenia, observou-se eosinofilia (27,4%), linfocitopenia (20%) e monocitopenia (66,3%) (tabela II).
4. A contagem de plaquetas foi normal em todos os pacientes estudados.

No estudo histológico da medula óssea dos 95 pacientes encontramos os seguintes resultados (tabela III e IV).

1. Hipocelularidade global em 74 casos (77,9%). A hipocelularidade foi intensa (3+) em 13 casos (13,7%) (foto 1 e 2); moderada (2+) em 33 (34,7%) (foto 2) e leve (1+) em 28 casos (29,5%). Observou-se um caso com hipocelularidade global. Assim sendo, 4/5 dos casos foram anormais; 1/5 dos casos, (20 casos) foram normais quanto à celularidade.
2. O tecido adiposo guardou uma relação inversa com a celularidade e o seu aumento foi acompanhado de redução celular da medula óssea.
3. No estroma ocorreu edema intersticial em 20 casos

(21,1%), hemorragia em 16 (16,8%) (foto 3), não tendo sido observado nenhum caso de aumento das fibras colágenas.

4. Em relação as três séries da mielopoiese, a alteração mais evidente foi a hipocelularidade do setor granulocítico em 79 casos (83,1%), seguido de hipocelularidade megacariocítica em 62 casos (65,2%) e por último, em 48 casos (50,5%) hipocelularidade no setor eritroblástico. Em relação a esta última série, observou-se aumento de celularidade em sete casos (7,4%).
5. O setor granulocítico, o mais comprometido, apresentou redução intensa da celularidade em 14 casos (14,7%), moderada em 33 (34,7%) e leve em 32 (33,6%). Em 13 casos foi observado desvio à esquerda do setor granulocítico. Concluindo: 4/5 dos casos apresentaram alterações sendo que apenas 16 (16,8%) casos eram normais do ponto de vista histológico da medula óssea.
6. O setor megacariocítico apresentou redução intensa de celularidade em seis casos (6,3%): moderada em 19 (20%) e leve em 37 (38,9%). Estes dados refletem que em 2/3 dos casos, a celularidade estava alterada enquanto que em 1/3 estava normal. A alteração qualitativa mais significativa do setor megacariocítico, foi a presença de micro-megacariócitos em 11 casos (11,7%) (Burkhardt, 1984).
7. O setor eritroblástico, apresentou redução moderada de

celularidade em 12 casos (12,6%) e leve em 36 (37,9%). Nenhum caso apresentou hipocelularidade intensa. Neste setor 40 casos (40,42%) foram normais e em 7 casos (7,4%) foram observados aumento da celularidade. Não foram evidenciadas anormalidades qualitativas.

8. A eosinofilia foi um dado observado em 64 casos (67,3%) (foto 4). Em 16 (16,8%) a eosinofilia foi moderada sendo que em 48 (50,5%) a alteração quantitativa foi leve. Em 31 casos (36,6%) a distribuição dos eosinófilos no estudo histológico foi normal.
9. Além da coloração pelo HE, a complementação do estudo histológico procedeu-se através de reações histoquímicas adicionais. O resultado revelou que os 95 casos não apresentaram particularidades pela reação do PAS ou, aumento dos depósitos do ferro.
10. A impregnação pela prata através do método de Gomori, demonstrou aumento das fibras de reticulina em 10 casos (10,52%) (foto 5). Este aumento foi difuso em 5 casos (5,26%) e focal nos outros 5. As fibras reticulínicas estavam normais e distribuídas uniformemente nos 85 casos restantes.
11. Em 2 casos foi observada a presença de nódulo linfóide benigno.

Os resultados da observação citológica nos 33 pacientes foram os seguintes:

TABELA I - Dados Hematimétricos dos 95 pacientes

ERITRÓCITOS/dl			HEMOGLOBINA/dl			HEMATÓCRITO %			VOLUME CORPUSCULAR MÉDIO (fl)		
VALORES	Nº	%	VALORES	Nº	%	VALORES	Nº	%	VALORES	Nº	%
3499 a 3999 x 10 ³ /dl	1	(1,05%)	< 12,9	7	(7,37%)	39%	3	(3,16%)	76,9	1	(1,05%)
3999 a 4499 x 10 ³ /dl	5	(5,26%)	> 12,9	88		39 a 41%	4	(4,21%)	76,9 a 93	76	(80%)
4499 x 10 ³ /dl	89		-	-		> 41%	88		> 93	18	(18,95%)
$\bar{X}$	4925.8 x 10 ³ /dl		$\bar{X}$	14,532 g/dl		$\bar{X}$	44,6%		$\bar{X}$	89,73 fl	
SD	341,41		SD	1.05		SD	2,7		SD	6,89 fl	
M	4900 x 10 ³ /dl		M	14,5 g/dl		M	45%		M	90 fl	

dl - decilitros; fl - fentolitros; $\bar{X}$ - média; SD - desvio padrão; M - mediana; < - abaixo; > - acima

TABELA II - Dados Leucométricos Globais e Diferenciais dos 95 pacientes

	0-200/dl	200-500/dl	500-1500/dl	1501-2000/dl	2001-4000	> 4000	$\bar{x}$	M
LEUCÓCITOS					54 (57,9%)	41 (42,1%)	3779	3800
NEUTRÓFILOS				95 (100%)			1436	1530
LINFÓCITOS			19 (20%)	76 (80%)			1920	1914
MONÓCITOS	63 (66,3%)	32 (33,7%)					166	144
EOSINÓFILOS		69 (73,6%)	26 (27,4%)				300	210

dl - decilitro
> - acima
 $\bar{x}$ - média
M - mediana

TABELA III - Resultado do Estudo Histológico da Medula Óssea dos 95 pacientes.
 Celularidade Global e alterações do estroma medular.

	INT.	Nº	%	TOTAL
CELULARIDADE GLOBAL				
HIPOCELULARIDADE	1+	28	29,5	74 (77,9)
	2+	33	34,7	
	3+	13	13,7	
NORMOCELULARIDADE		20	21,1	20 (21,1)
HIPERCELULARIDADE	1+	1	1,1	1 (1,1)
TECIDO ADIPOSEO				
DIMINUÍDO	1+	1	1,1	1 (1,1)
NORMAL		20	21,1	20 (21,1)
AUMENTADO	1+	28	29,5	74 (77,9)
	2+	33	34,7	
	3+	13	13,7	
EDEMA				
AUSENTE		75	78,9	75 (78,9)
PRESENTE	1+	19	20,0	20 (1,1)
	2+	1	1,1	
HEMORRAGIA				
AUSENTE		79	83,2	79 (83,2)
PRESENTE		16	16,8	16 (16,8)

Int - Intensidade

% - percentagem

1+ - leve

2+ - moderada

3+ - intensa

TABELA IV - Resultado do Estudo Histológico da Medula Óssea de 95 pacientes
(HE, Reticulina, Ferro, PAS)

INT		Nº	%	TOTAL	ANORMALIDADES QUALITATIVAS
SÉRIE ERITROBLÁSTICA					
HIPOCELULARIDADE	1+	36	37,9	48 (50,5)	
	2+	12	12,6		
	3+				
NORMOCELULARIDADE		40	42,1	40 (42,1)	
HIPERCELULARIDADE	1+	7	7,4	7 (7,4)	
SÉRIE GRANULOCÍTICA					
HIPOCELULARIDADE	1+	32	33,7	79 (83,1)	DE (13-13,8%) Nódulo linfóide (2-6,06%)
	2+	33	34,7		
	3+	14	14,7		
NORMOCELULARIDADE		16	16,8		
SÉRIE MEGACARIOCÍTICA					
HIPOCELULARIDADE	1+	37	38,9	62 (65,2)	AM (11-11,7%)
	2+	19	20,0		
	3+	6	6,3		
NORMOCELULARIDADE		33	34,7		
SÉRIE EOSINOFÍLICA					
NORMOCELULARIDADE		31	32,6	31 (32,6)	
HIPERCELULARIDADE	2+	48	50,5	64 (67,3)	
	3+	16	16,8		
RETICULINA					
NORMAL		85	89,5	85 (89,5)	
AUMENTADO		10	16,8	10 (16,8)	FO (5-5,3%) DI (5-5,3%)
FERRO					
NORMAL		94		94 (98,9)	
AUMENTADO		1	1,1	1 (1,1)	

INT - intensidade

% - percentagem

1+ - leve

2+ - moderada

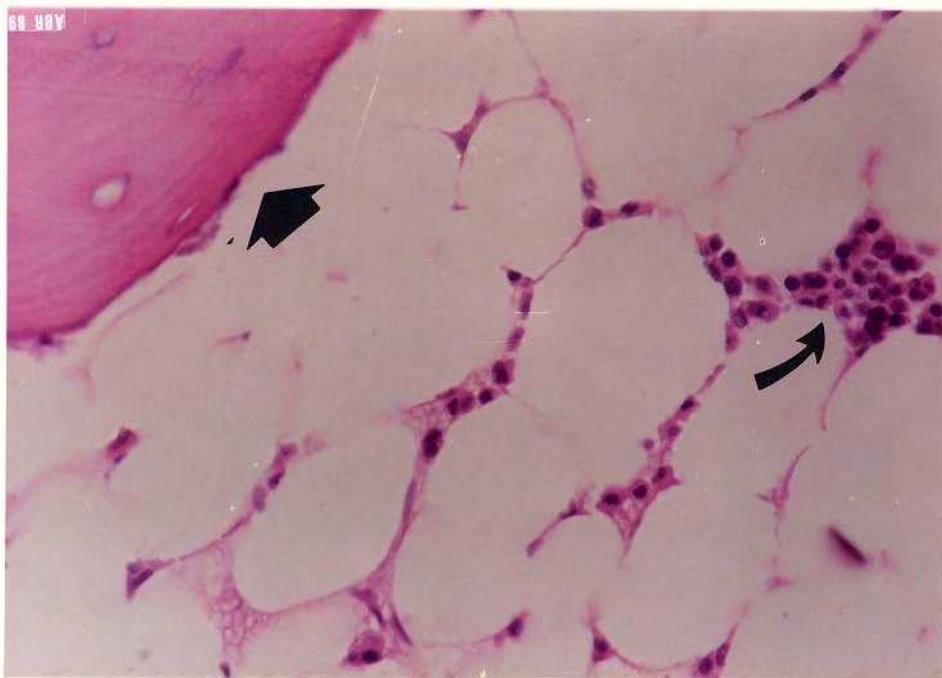
3+ - intensa

DI - Aumento difuso reticulina

AM - Atípicas, micromegacariócitos

DE - Desvio à esquerda, setor granulocítico

FO - Aumento focal reticulina



*FOTO 1 - Aspecto de uma medula óssea hipocelular.
No alto à esquerda a seta indica uma
trabécula óssea; à direita um grupo de
eritroblastos (HE 250x)*

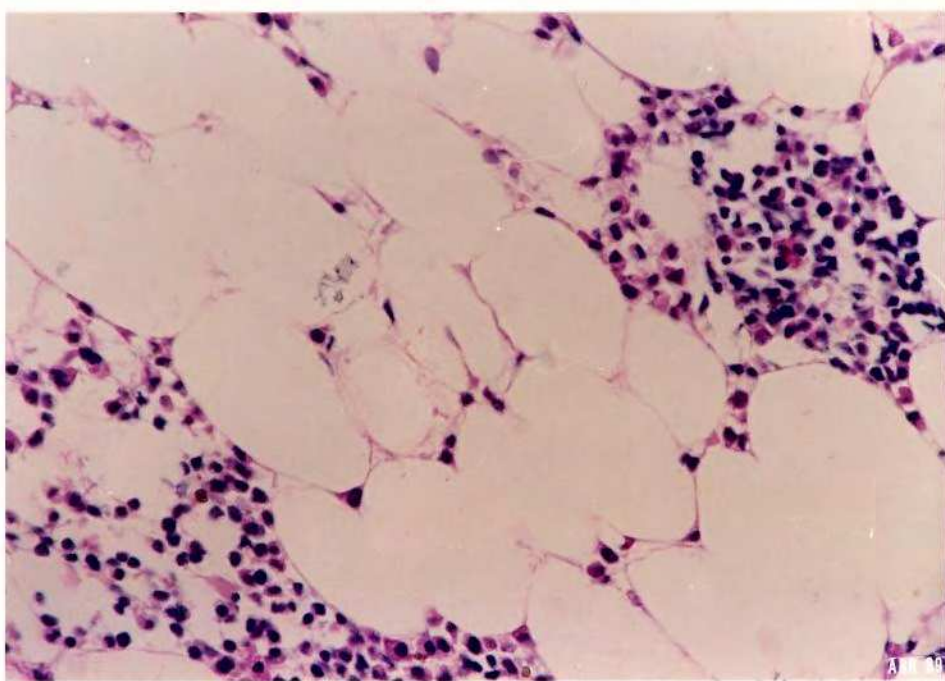


FOTO 2 - Aspecto de uma medula óssea hipocelular.

No centro um foco de intensa hipocelularidade (HE 100x)

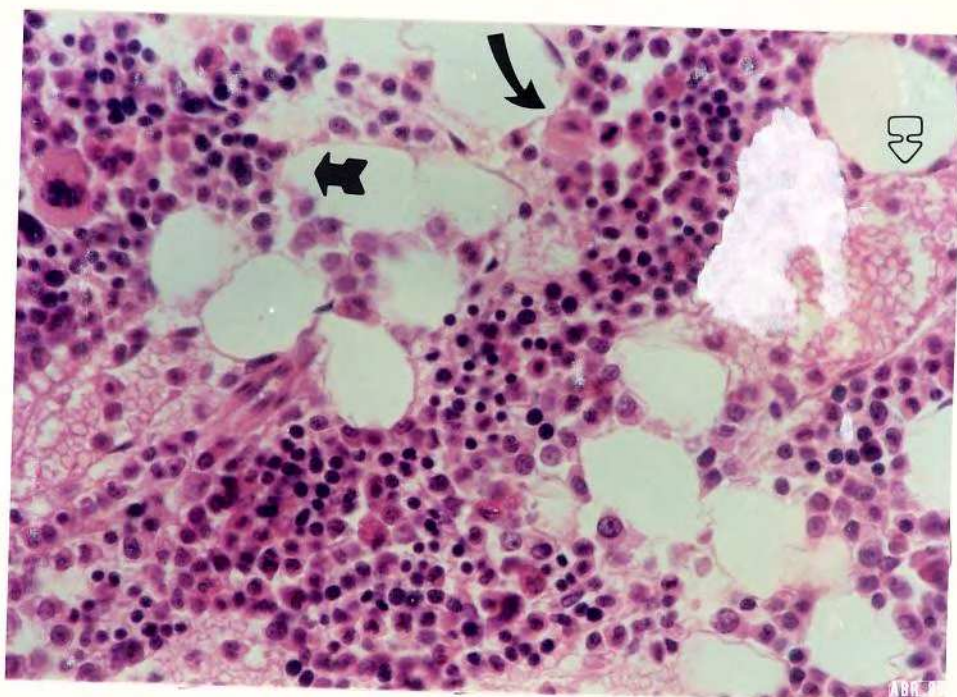


FOTO 3 - No alto à direita a seta indica uma área de hemorragia intersticial; ao centro um megacariócito atípico. Observar hiperblasia eritroblástica (seta) e hipocelularidade granulocítica (HE 100x)

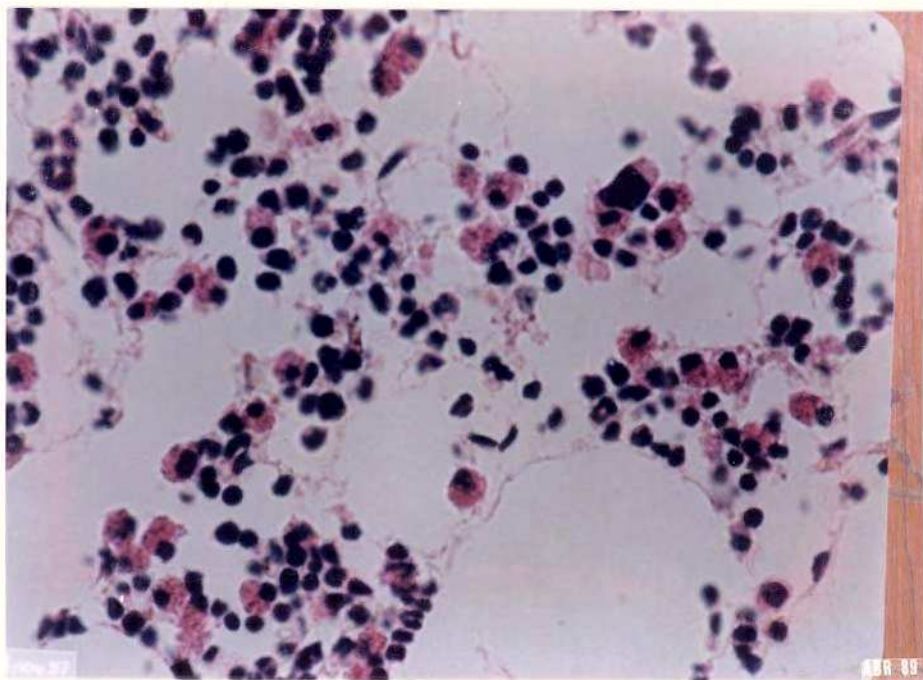


FOTO 4 - Eosinofilia intensa.

*Observar a hipocelularidade do setor
granulocítico (HE 100x)*

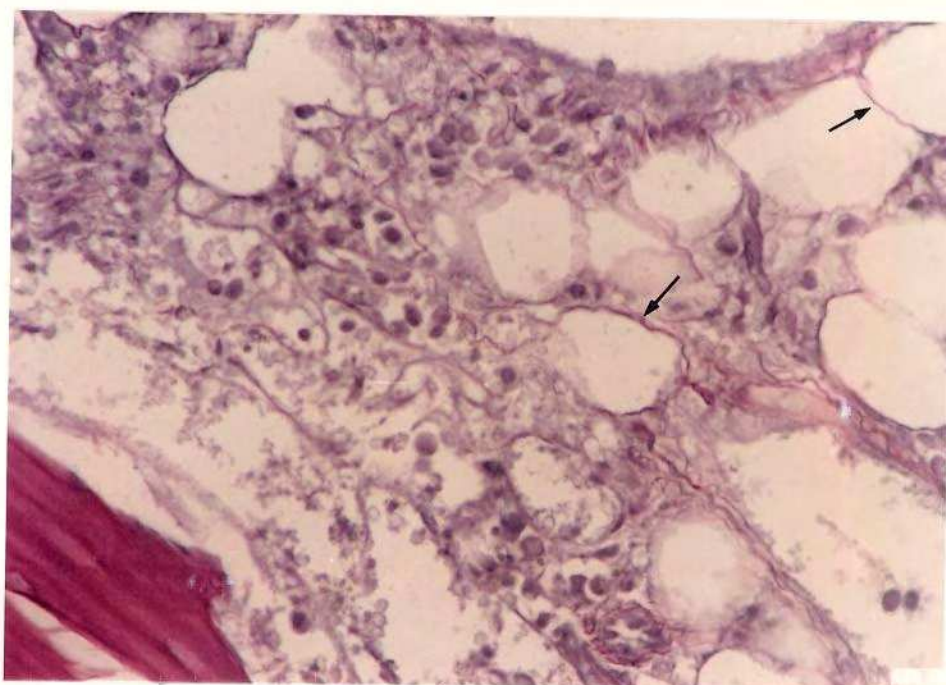


FOTO 5 - Arcabouço reticulínico.

*Presença de dissociação de reticulina e
fibras espessas (setas).*

Impregnação pela prata. (Gomori 250x)

1. A hipocelularidade global ocorreu em 24 casos (72,7%) desta série. A hipocelularidade foi intensa em dois casos (6,0%); moderada em sete casos (21,2%) e leve em 15 casos (45,45%). A celularidade foi aumentada em um caso (3%) e normal em oito (24,2%) (tabela V).
2. A relação granulocítico/eritroblástico (G/E), foi inferior a 3 em 28 casos (84,84%) e em 17 (51,51%) foi abaixo de dois.
3. As alterações qualitativas do setor eritroblástico foram mais evidenciadas do que a dos outros setores, e estavam presentes em 10 casos (30,3%). Tais anormalidades foram picnose nuclear, dishemoglobinizacão, núcleo em trevo, pontilhado basófilo e transformação megaloblastóide.
4. Foi observado em um caso, 9% de blastos.
5. No setor megacariocítico foi observada a presença de micromegacariócitos em 2 casos (6%).

No estudo histológico desta série de 33 pacientes, foram observados os seguintes resultados (Tabela VI e VII):

1. Hipocelularidade global em 25 casos (75,75%) sendo que os oito restantes (24,24%) encontravam-se dentro da normalidade.

2. O tecido adiposo guardou também nesta série, uma relação inversa com a celularidade, sendo o seu aumento acompanhado de redução da medula óssea.
3. No estroma observou-se, edema intersticial em 3 casos (9,1%), hemorragia em 7 casos (21,21%).
4. Em relação aos 3 setores da mielopoiese, a alteração mais evidente foi a hipocelularidade do setor granulocítico em 28 casos (84,84%), seguido da hipocelularidade do setor megacariocítico com 21 casos (63,63%) e por último do setor eritroblástico com 15 casos (45,45%). Em relação a este último setor, foi observado um aumento de celularidade em quatro casos (12,12%).
5. O setor granulocítico, apresentou redução intensa da celularidade em 4 casos (12,12%), moderada em 10 (30,3%), leve em 14 (42,42%) e estava normal em 5 casos (15,15%). Foram observados desvios à esquerda em 7 casos (21,21%).
6. O setor megacariocítico apresentou redução intensa da celularidade em 2 casos (6,06%), moderada em 5 (15,15%) e leve em 14 (42,42%). Apresentaram ainda celularidade normal em 12 casos (36,36%). A alteração observada foi a presença de micromegacariócitos em 5 casos (15,15%).
7. O setor eritroblástico, apresentou redução de celularidade em 15 casos (45,45%). Foram observados 4 casos (12,12%) com hipocelularidade moderada, e leve em 11

(33,33%). A celularidade estava aumentada em 4 casos, restando 13 (39,39%) normais.

8. A eosinofilia estava presente em 21 (63,63%). O número de eosinófilos estava normal em 12 (36,36%).
9. Além da coloração pelo HE, a complementação através dos métodos do PAS e do ferro medular não apresentaram particularidades ou anormalidades.
10. A impregnação pela prata, demonstrou fibrose reticulínica em 2 casos (6,06%), sendo que em ambos o aumento era difuso. As fibras reticulínicas estavam normais e distribuídas uniformemente nos 31 casos restantes.
11. Em dois casos foram observados nódulos linfóides benignos.

O estudo histológico e citológico apresentou a seguinte correlação:

1. Em 3/4 dos pacientes, a hipocelularidade global foi concomitantemente observada nos métodos citológico e histológico.
2. A redução da série granulocítica foi evidenciada na citologia, pela relação G/E, e no método histológico. As atipias do setor eritroblástico foram melhor observadas pela citologia.

3. A eosinofilia foi detectada em ambos os métodos, porém foi mais evidente através do método histológico.
4. As atipias do setor megacariocítico foram melhor evidenciadas pela histologia.

TABELA V - Resultados do Estudo Citológico em 33 pacientes em relação a Celularidade Global.
Romanovsky

CELULARIDADE GLOBAL	INT.	Nº	%	TOTAL
HIPOCELULARIDADE	1+	15	45,5	24 (72,8)
	2+	7	21,2	
	3+	2	6,1	
NORMOCELULARIDADE		8	24,2	8 (24,2)
HIPERCELULARIDADE	1+	1	3,0	1 (3,0)

INT. - Intensidade

% - percentagem

1+ - leve

2+ - moderada

3+ - intensa

TABELA VI - Resultados do Estudo Histológico da Medula Óssea em 33 pacientes
 Celularidade Global e alterações do estroma medular (HE)

	INT	Nº	%	TOTAL
CELULARIDADE GLOBAL				
HIPOCELULARIDADE	1+	12	36,36	25 (75,75)
	2+	9	27,27	
	3+	4	12,12	
NORMOCELULARIDADE		8	24,24	8 (24,24)
TECIDO ADIPOSEO				
NORMAL		8	24,24	8 (24,24)
AUMENTADO	1+	12	36,36	25 (75,75)
	2+	9	27,27	
	3+	4	12,12	
EDEMA				
AUSENTE		30	90,90	30 (90,90)
PRESENTE	1+	3	9,10	3 (9,10)
HEMORRAGIA				
AUSENTE		26	78,78	26 (78,78)
PRESENTE	1+	7	21,21	7 (21,21)

INT - Intensidade

% - percentagem

1+ - leve

2+ - moderada

3+ - intensa

TABELA VII - Resultados do Estudo Histológico de Medula Óssea em 33 pacientes (HE, Reticulina, Ferro, PAS)

INT		Nº	%	TOTAL	ANORMALIDADES QUALITATIVAS
SÉRIE ERITROBLÁSTICA					
HIPOCELULARIDADE	1+	11	33,33	15 (45,45)	
	2+	4	12,12		
	3+				
NORMOCELULARIDADE		14	45,42	14 (45,42)	
HIPERCELULARIDADE	1+	4	12,12	4 (12,12)	
SÉRIE GRANULOCÍTICA					
HIPOCELULARIDADE	1+	14	42,42	28 (84,84)	DE (7-21,21%)
	2+	10	30,30		
	3+	4	12,12		
NORMOCELULARIDADE		5	15,15	5 (15,15)	Nódulo Linfóide (2-6,06%)
SÉRIE MEGACARTOCÍTICA					
HIPOCELULARIDADE	1+	14	42,42	21 (63,63)	AM (5-15,15%)
	2+	5	15,15		
	3+	2	6,06		
NORMOCELULARIDADE		12	36,36	12 (36,36)	
SÉRIE EOSINOFÍLICA					
NORMOCELULARIDADE		12	36,36	12 (36,36)	
HIPERCELULARIDADE	1+	18	54,54	21 (63,63)	
	2+	3	9,09		
RETICULINA					
NORMAL		31	93,93	31 (93,93)	DI (2-6,06%)
AUMENTADO		2	6,06	2 (6,06)	
FERRO					
NORMAL		33	100,00	33 (100,0)	
AUMENTADO					

INT - Intensidade

% - percentagem

1+ - leve

2+ - moderada

3+ - intensa

DI - Aumento difuso reticulina

AM - Atípias, micromegacariócitos

DE - Desvio à esquerda, setor granulocítico

V - DISCUSSÃO

A ocorrência de alterações hematológicas, em trabalhadores de uma indústria siderúrgica do município de Cubatão, São Paulo, promoveu grande polêmica médico social (Augusto, 1984, 1987; Ruiz, 1985; Bedrikow, 1987). A alteração laboratorial predominante foi leucopenia devido à neutropenia. O número de leucócitos e particularmente dos neutrófilos, não tem valor definitivo como sinal de acometimento do tecido hematopoiético. Porém, relatos demonstram que expostos ao benzeno em atividades ocupacionais, apresentam leucopenia como uma das alterações mais freqüentes considerada como indício de exposição crônica (Aksoy, 1971; Marsh, 1985). Os valores numéricos dos neutrófilos diferem (vide apêndice) pois dependem de inúmeros fatores. Dentre estes, Malvezzi (1987b) destaca a idade, o sexo, a raça, o exercício físico, o estresse, a variação temporal, o ciclo menstrual, a gravidez, o uso de anticoncepcionais e o fumo.

Albritton (1952), Tamigaki (1969), Orfanakis (1970), Ásfora (1971), Zacharski (1971), Bain (1975) e Malvezzi (1987a) ao estudarem populações distintas, observaram que o limite inferior de normalidade dos neutrófilos oscilou entre 1500 a 2500 dl.

Pelos motivos expostos, adotamos então como referência inferior para os neutrófilos o valor de 2000/dl segundo Dacie (1984).

Os efeitos adversos de exposição crônica ao benzeno em relação ao tecido hematopoiético tem sua base em estudos experimentais e observações esporádicas de casos fatais em humanos, principalmente após exposições agudas (Andrews, 1977; Ward, 1985).

Em nossa revisão bibliográfica, ressalta-

mos que não observamos estudos semelhantes de avaliação do tecido hematopoiético, com as características de nossa população.

O estudo histológico de MO dos 95 pacientes revelou hipocelularidade global em 74. Este dado é considerado por nós como relevante, por representar cerca de 80% de nossa casuística. Acrescente-se a este dado que a intensidade de redução de celularidade foi moderada e grave em 46 pacientes e leve em 28. Convém relatar, como dado adicional, que a maioria dos casos apresentavam semelhança com o Grau II de classificação de Duhamel (vide apêndice). Inúmeros autores valorizam as lesões estromais (Waitz, 1971; Duhamel, 1974, 1978). A hemorragia, as distorções das fibras de reticulina e particularmente o edema interfibrilar, são considerados sinais de toxicidade medular. Em nossa série, o edema esteve presente em 20 pacientes sendo que, em 16 constatamos a presença de hemorragia.

A hipocelularidade global dependeu da redução do setor granulocítico. A redução deste setor em nossa série esteve presente em 79 casos, o que atinge a importante cifra de alteração em 83% de nossos pacientes.

A hipocelularidade do setor granulocítico, por exposição crônica ao benzeno é relatada em inúmeros estudos experimentais (Leong, 1977; Irons, 1979; Green, 1981). Esta alteração ocorre devido a uma ação direta do benzeno sobre as células primitivas (Cronkite, 1985).

A hipocelularidade medular que se instala é acompanhada de paitopenia periférica, com redução dos neutrófilos e linfócitos circulantes (Frash, 1976; Leong, 1977; Irons, 1979; Longacre, 1981; Green, 1981).

Assim, quando de uma exposição crônica ao benzeno, relatos demonstram que o setor granulocítico é o mais precoce e comumente afetado (Marsh, 1985).

Particular atenção deve ser dada a eosinofilia medular em 64 casos. A explicação de sua presença é por nós considerada como intrigante, apesar de em toxicidades medulares intensas ela ser observada. O mecanismo é obscuro, sendo no entanto oportuno destacar que na agranulocitose, ela pode estar associada a hipocelularidade granulocítica (Krause, 1981).

A hipocelularidade do setor megacariocítico esteve presente em 62 casos (65,2%). A intensidade de redução variou desde o grau leve ao intenso. As atipias observadas, foram os micromegacariócitos e os megacariócitos pleomorfos. Relatos da literatura destacam ser este setor o segundo mais afetado quando da exposição à agentes medicamentosos, radiações ionizantes e ao benzeno (Hernandez, 1980).

Em nossa série de 95 pacientes o setor eritroblástico, comparativamente aos outros setores, foi o menos afetado do ponto de vista quantitativo. Apesar disto a hipocelularidade foi observada em 48 casos. A hipercelularidade esteve presente em 7 pacientes. Observamos aumento das fibras reticulínicas em 10 casos, sendo que, na metade deles o aumento foi focal e no restante foi difuso. Em um dos casos, em que houve aumento das fibras reticulínicas, o paciente apresentava anemia, macrocitose e alterações no setor granulocítico, semelhante a das mielodisplasias.

Em síntese, os achados histológicos de maior relevância foram: hipocelularidade global, hipocelu-

laridade granulocítica seguida da hipocelularidade megacariocítica, sendo o setor eritroblástico o menos acometido. A eosinofilia medular foi uma alteração constante.

Outro objetivo do presente trabalho foi correlacionar os dados citológicos com os histológicos tendo isto sido realizado em 33 pacientes.

A redução da celularidade global no estudo citológico ocorreu em 26 casos enquanto que, no estudo histológico desta série ela esteve presente em 25 casos. A redução da relação G/E esteve abaixo de três, em 31 casos e abaixo de dois em 17 casos. Deste fato concluímos que houve concordância entre os dois métodos para avaliação deste item.

Em um dos casos observamos a presença de 9% de blastos na medula óssea e de sinais de diseritropoiese no estudo citológico, além de atipias megacariocíticas no estudo citológico e histológico.

Finalizando concluímos que os métodos citológico e histológico auxiliam sobremaneira na definição e conclusão do comprometimento medular devendo portanto, serem associados pela complementariedade que possuem..

A distribuição racial, idade, naturalidade, foram variáveis que não apresentaram associação com as alterações medulares. Em relação ao local de trabalho dos pacientes, 32 eram da GCO, 12 da GAC e 16 da GLM demonstrando, uma maior concentração de pacientes em nosso estudo de áreas críticas, de exposição ao benzeno segundo a indústria siderúrgica (Cosipa, 1985).

Cumprе destacar que, o local de atividade

ocupacional não apresentou correlação com a intensidade das anormalidades observadas.

As alterações observadas no sangue periférico de importância foram a macrocitose, a eosinofilia, a linfocitopenia e a monocitopenia. Os dados por nós observados são semelhantes aos do estudo de Aksoy (1971). A macrocitose foi um dos dados hematológicos mais freqüentes e é considerado como um indício de exposição crônica ao benzeno, juntamente com a leucopenia (Aksoy, 1971).

A eosinofilia foi observada em 26 casos e a linfocitopenia em 19 casos. Em relação a linfocitopenia, Sawata (1985) considera esta alteração como o dado mais sensível e facilmente mensurável em expostos ao benzeno.

Em nosso estudo não observamos linfocitose, alteração descrita também nos estudos de Aksoy (1971). Neste ponto, após o comentário de nossos resultados e correlação com dados de literatura, devemos relatar que, os níveis de benzeno na indústria siderúrgica em tela, alcançou a cifra em torno de 1000 a 2500 ppm (Faria, 1987). Estes valores são considerados extremamente elevados pois propiciam um aumento de hemopatias dentre os expostos (Cronkite, 1985).

As fontes de exposição ao benzeno na indústria foram múltiplas tendo sido reconhecido uma universalidade de casos com alterações hematológicas no ambiente de trabalho (Cosipa, 1985).

A depressão da granulopoiése, megacariocitopoiése e eritropoiése como observamos em nosso estudo, pode ser devido à exposição ao benzeno, fato este ressaltado por Cronkite (1982).

O efeito leucemogênico do benzeno, exaustivamente relatado na literatura, é um fato preocupante em relação aos expostos e portadores de alterações hematológicas (Vigliani, 1964; Infante, 1985; Vianna, 1979; Rinsky, 1985; Aksoy, 1975, 1976; Checkow, 1984; Macgraw, 1985; Ott, 1978).

Outro aspecto a ser levado em conta, é o potencial de desenvolvimento de tumores malignos do tecido linfóide (linfomas) além de uma elevada expectativa de mortalidade por doenças neoplásicas (Tsongas, 1985).

Assim, pacientes que apresentaram alterações hematológicas periféricas e da medula óssea, devem ser seguidos e avaliados por longos períodos, afim de se determinar a morbidade e a taxa de mortalidade por doenças neoplásicas. Tal assertiva encontra respaldo na literatura, no relato de Grossenbacher (1982).

Concluindo, o papel inequívoco do benzeno na gênese de alterações hematológicas e os resultados do presente estudo nos permitem sugerir algumas medidas para os trabalhadores expostos cronicamente ao benzeno. Dentre estas, a mais acessível deve ser a realização de exames hematológicos periódicos. Os sinais precoces de acometimento hematológico que devem ser valorizados são a macrocitose, a leucopenia, a linfocitopenia e a monocitopenia.

O monitoramento biológico, com determinação de subpopulação linfocitária, é também uma outra medida a ser realizada nos pacientes expostos. O estudo medular, associando os métodos citológico e histológico, devem ser rotineiramente realizados naqueles pacientes com suspeita de acometimento medular. Devemos ampliar o espectro do conhe-

cimento, através de estudos citogenéticos que, permitam detectar alterações cromossomiais. Os estudos imunológicos e de unidades formadoras de colônias, serão passos fundamentais para o completo conhecimento deste processo patológico (Tice, 1985).

Finalizando, consideramos ser primordial a divulgação no meio médico dos efeitos do benzeno, a interpretação e a valorização adequada, dos dados hematológicos periféricos, além da indicação do estudo medular através da histologia e da citologia nos pacientes expostos.

VI - CONCLUSÕES

1. Anormalidades histológicas da medula óssea:

- a. Hipocelularidade global, com consequente aumento de tecido adiposo; hipocelularidade no setor granulocítico; eosinofilia e hipocelularidade do setor megacariocítico. O setor menos comprometido foi o eritroblástico. As alterações morfológicas, mais evidentes foram as atipias do setor megacariocítico, com destaque para a presença dos micromegacariócitos.
- b. Além da hematoxilina-eosina, a impregnação pela prata complementou o estudo medular, pela caracterização do aumento de fibras de reticulina. O método do PAS, auxiliou na comprovação da celularidade medular, pela boa diferenciação dos setores eritroblástico e granulocítico e, evidenciou os megacariócitos.

2. Correlação entre os métodos citológico e histológico.

A hipocelularidade entre os métodos foi demonstrada em ambos os métodos. A hipocelularidade do setor granulocítico e megacariocítico além da eosinofilia foi melhor evidenciada na histologia.

As alterações morfológicas do setor eritroblástico foram evidentes somente na citologia. As atipias do setor megacariocítico, foram melhor evidenciadas na histologia. Ambos os métodos, foram complementares na caracterização das anormalidades da medula óssea.

3. Correlação dos dados clínicos e hematológicos com os achados do estudo medular.

As anormalidades apresentadas independem da faixa etária, da raça, da procedência, da naturalidade e do local de atividade dos pacientes. Nenhum dos dados clínicos correlacionou-se com as anormalidades e ou intensidades das alterações.

4. As anormalidades hematológicas observadas foram macrocitose, eosinofilia, linfocitopenia e a monocitopenia.

VII - RESUMO

Foi realizado um estudo morfológico da medula óssea em 95 trabalhadores neutropênicos, oriundos da indústria siderúrgica de Cubatão, no Estado de São Paulo. Todos os pacientes eram do sexo masculino e tinham idade entre 20 e 60 anos além de, apresentarem antecedentes de exposição ao benzeno no desempenho de suas atividades ocupacionais.

O estudo histológico demonstrou hipocelularidade global em 74 casos (77,9%); no setor granulocítico em 79 casos (83,1%); no setor megacariocítico em 62 casos (65,2%) e em 48 (50,5%) no setor eritroblástico. A eosinofilia medular estava presente em 64 casos (67,3%). No estroma foi observada a presença de edema intersticial em 20 casos (21,1%) e hemorragia em 16 (16,8%). A impregnação pela prata, demonstrou um aumento das fibras de reticulina em 10 casos (10,52%) difuso em cinco casos e focal nos outros cinco.

O estudo citológico demonstrou hipocelularidade global em 24 casos (72,8%). A relação granulocítico/eritroblástico (G/E), foi inferior a três em 28 casos (85,7%) e abaixo de dois em 17 (51,2%). As alterações reconhecidas à citologia do setor eritroblástico foram observadas em 10 casos.

As alterações do sangue periférico, além da neutropenia, foram a macrocitose (18,9%), a eosinofilia (27,4%), a monocitopenia (66,3%) e a linfocitopenia (20%).

Concluimos que os métodos histológico e citológico foram complementares em nosso estudo. Nenhum dos dados clínicos ou qualquer outra variável estudada, correlacionou-se com as anormalidades e/ou intensidades das al-

terações.

O presente estudo, nos permite refletir a respeito da responsabilidade do benzeno, no estabelecimento das anormalidades morfológicas. Propicia também, a necessidade do monitoramento das alterações hematológicas, e abre perspectivas de novos estudos em trabalhadores expostos ao benzeno.

VIII - SUMMARY

A morphological study of bone marrow (BM) was done in 95 workers of steel work in Cubatão-SP, and presenting neutropenia.

All patients were male, age ranged from 20 to 60 years and there was a history of chronic exposure to benzene during work.

On BM biopsy, 74 cases (77,9%) had a hypocellular marrow. Granulocytes precursors were diminished in 79 cases (83,1%), megakaryocytes in 62 cases (65,2%) and erythroblasts in 48 cases (50,5%). Hyperplasia of erythroid precursors was observed in 7 cases (7,4%).

Eosinophilis were increased in 64 cases (67,3%). Interstitial oedema was present in 20 cases (21,1%) and hemorrhage in 16 (16,8%).

Reticulin fibres were increased in 10 cases (10,52%). In 33 cases, cytologic smears were also examined cellularity was diminished in 24 cases (72,8%). The myeloid/erythroid ratio was below 3/1 in 28 cses (85,7%) and below 2/1 en 17 cases (51,2%). Cellular atypias of erythroblasts were detected in 10 cases (28%).

In the peripheral blood counts, mean corpuscular volume of red cells was ≥ 93 fl. in 18 patients (18,9%). Besides neutropenia, 26 cases (27,4%) showed eosinophilis ≥ 500 /dl, monocytes were $\leq 200/\text{mm}^3$ in 63 cases (66,3%), lymphocytes were ≤ 1500 / mm^3 in 19 cases (20%).

Histological and cytological preparations were complementary for the diagnosis in the cases studied. None of the clinical data correlated with the change seen in BM.

The present study examines the relationship between chronic exposure to benzene and EM changes. It also calls attention to the haematological changes induced by this compound and underlines the importance of making serial blood counts in workers exposed to it.

IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKSOY, M.; DINÇOL, H.; AKGUN, T.: "Hematological effects of chronic benzene poisoning in 217 workers". Br J Ind Med, 28: 296, 1971.
2. AKSOY, M.; ERDEN, S.: "Acute leukemia due to chronic exposures to benzene". Am J Med, 52: 160, 1971.
3. AKSOY, M.: "Malignancies due to occupational exposure to benzene". Am J Ind Med, 7: 395-402, 1975.
4. AKSOY, M.; ERDEN, S.; DINÇOL, G.: "Types of leukemia in chronic benzene poisoning". Acta Hematol, 55: 65-72, 1976.
5. ALBRITTON, E.C.: "Standard values in blood". W B Saunders Co, Philadelphia 51, 1952.
6. AMIEL, J.L.: "Essai négatif d'induction de leucémies chez les souris par le benzene". Rev Franc Etude Clin Biol, 5: 198, 1960.
7. ANDREWS, L.S.; LEE, E.W.; WITMER, C.M.: "Effects of toluene on the metabolism, disposition and hemopoietic toxicity of benzene". Biochem Pharmacol, 26: 293, 1977.
8. ARIKIN, M.J.: "Intravitalen Untersuchungsmethodik des Knochenmarks". Folia Hematol, 38: 233, 1929 in WINTROBE, M.M.: "Clinical Hematology". 8ª ed Lea and Febiger, Philadelphia, 59, 1981.
9. ÁSFORA, J.J.: "Contribuição ao estudo do hemograma em adultos normais, na cidade do Recife". Universidade Federal de Pernambuco, Tese 74 pp.; 1971.
10. AUGUSTO, L.G.S.: "Benzolismo em uma siderúrgica". SOS, 19: 183, 1984.

11. AUGUSTO, L.G.S.: "Benzenismo em trabalhadores do parque industrial de Cubatão - causas e providências". Bol SBHH, 9 (144) 106, 1987.
12. AYERS, G.W.; MURDER, R.E.; BENZENE IN KIRK R.L.; OTHMER D.F.: "Encyclopedia of chemical technology". vol. III New York - John Wilwy and Sons, 367, 1984.
13. BAIN, B.J.; ENGLAND, J.M.: "Variations in leucocyte count during menstrual cycle". Br Med J, 2: 473-5, 1975.
14. BALDWIN, R.W.; PALLMER, H.C.; PARFITT, R.T.; PARTRIDGE, M.W.: "Studies on the carcinogenicity of trycridoquina zoline A.R.". Birt Emp Cancer Campn, 39: 414, 1961.
15. BARTL, R.: "Assessment of bone marrow histology in the malignant lymphomas (Non-Hodgkin): Correlations with Clinical factors for diagnostics, prognosis, classification and staging". Br J Haematol, 51: 511, 1982.
16. BARTL, R.; FRISH, B.; KETTNER, G.: "Histologic classification of lymphoproliferative disorders in the bone marrow biopsies update. New prospects for clinical diagnostics". Ed Karger bibliothec haematol 50: 98, 1984.
17. BEDRIKOW, B.: "Simpósio de Leucopenia". Bol SBHH, 9: 106, 1987.
18. BERNARD, J.; LEVY, J.P.; VARET, B.: "Caracteres généraux du tissu myeloide in Hematologie". Flammarion - Medicine - Sciences, 20, rue de Vangirand 75006 Paris 5 vol 1, 1976.
19. BITHELL, T.C.; WINTROBE, M.M.: "Drug induced aplastic anemia". Sem Haematol, 194, 1967.

20. BOLCSAK, L.E.; NERLAN, D.E.: "Inhibition of erythropoiesis by benzene metabolites". Toxicol Appl Pharmacol, 69: 363, 1983.
21. BOWDITCH, M.; ELKINS, H.B.: "Chronic exposure to benzene (benzol) the industrial aspects". J. Ind Hyg Toxicol, 21: 321, 1939.
22. BRAGHETTA, M.S.: "Introdução à formação econômica da Baixada Santista". Associação dos Empresários da Construção Civil - ASSECOB, Santos, São Paulo, 1984.
23. BRUNNING, R.D.: "Bilateral trephine bone marrow biopsies in lymphomas and other neoplastic diseases". Ann Inter Med, 82: 365, 1975.
24. BURDETTE, W.J.; STRONG, L.C.: "Comparison of methyl salicylate and benzene as solvents for methyl cholantrene". Cancer Res, 1: 939, 1941.
25. BURKHARDT, R.; FRISH, B.; BARTL, R.: "Bone marrow biopsy in haematological disorders". J Clin Pathol, 35 (3), 257, 1982.
26. BURKHARDT, R.; BARTL, R.; JAGER, K.; FRISH, B.; KETNER, G.; MAHL, G.; SUND, M.: "Chronic myeloproliferative disorders (CMPD)". Path Res Pract, 179: 131-186, 1984.
27. CEFIC: "CEFIC criterium document on benzene european council of chemical manufactures federations". Avenue Louise 250 Bte 71 B 1050, Brussel Belgium, 1985.
28. CHECKOW, H.; WILCOSKY, T.; WOLF, P.: "An evaluation of the associations of leukemia and rubber industry solvent exposures". Am J Ind Med, 5: 239-249, 1984.
29. COOMBS, M.M.; CROFT, C.J.: "Carcinogenic derivatives of cyclo penta phenantreno". Nature, 210: 1281, 1966.

30. COSIPA: "Relatório do grupo de trabalho para estudo da leucopenia". 1985.
31. CRONKITE, E.P.; INOUE, T.; CARSTEN, A.L.: "Effects of benzene inhalation on murine pluripotent stem cells" J Toxicol Environ Health, 3 (9): 411-421, 1982.
32. CRONKITE, E.P.; DREW, R.T.; INOUE, T.: "Benzene hematotoxicity and leukemogenesis". Am J Ind Med, 7: 447, 1985.
33. DACIE, J.V.; LEWIS, S.M.: "Practical Hematology". 5th ed Churchill Livingstone - Edinburgh, London, New York, 13, 1975.
34. DACIE, J.V.; LEWIS, S.M.: "Practical haematology". 6th ed Edinburgh Churchill Livingstone, 453, 1984.
25. DAMESHEK, W.; GUNZ, F.: "LEUKEMIA". New York, Grune, Stratton 230, 1959.
36. DE GOWIN, R.L.: "Benzene exposure and aplastic anaemia followed by leukaemia 15 years later". J Am Med Ass, 185: 748-751, 1963.
37. DEICHMANN, W.C.; MAC DONALD, W.E.; BERNAL, E.: "The hemopoietic tissue toxicity of benzene vapors". Toxicol Appl Pharmacol, 5: 201, 1963.
38. DELORE, P.; BORGOMANO, C.: "Leucémies aiguës au cours de l'origine toxique de certains aiguës et leurs relations avec les anémies graves". J Med Lyon, 9: 2 1928.
39. DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT: "Benzol am Arbeitsplatz" Weinheim, Verlag Chemie Gmbh, 1974.
40. DUHAMEL, G.: "Modifications de la moelle osseuse dans les sarcomes". Sem Hosp Paris, 50: 2317, 1974.

41. DUHAMEL, G.; MURATORE, R.; BRYON, P.A.; HORSCHOWSKI, N.: "Les lésions histologiques de moelle dans la aplasie médullaire. Résultats de un protocole commun portant sur 261 biopsies". Nouv Rev Hématol, 20: 17, 1978.
42. ELLIS, L.D.: "Needle biopsy of bone and marrow". Arch Intern Med, 144: 213, 1964a.
43. ELLMAN, L.: "Bone marrow biopsy in the evolution of lymphoma, carcinoma and granulomatous disorders". Am J Med, 60 (30) 1, 1976.
44. FARIA, M.A.M.: "Valores hematológicos em trabalhadores em exposição ao benzeno". Bol SBHH, 9 (144), 100, 1987.
45. FLURY, F.: "Moderne Gewerbliche Vergiftungen in pharmakologischer toxiologische Hinsicht Naunyn-Schmiedeberg's". Arch Exp Path Pharmac, 138: 65, 1928 citado IARC (1974).
46. FORNI, A.; MOREO, L.: "Cytogenetic studies in a case of benzene leukaemia". Europ J Cancer, 3: 251, 1967.
47. FORNI, A.; MOREO, L.: "Chromosome studies in a case of benzene induced erythroleukaemia". Europ J Cancer, 5 459, 1969.
48. FORNI, A.; PACIFICO, E.; LIMONTA, A.: "Chromosome studies in workers exposed to benzene or toluene or both". Arch Environ Health, 22: 373, 1971.
49. FORNI, A.: "Chromosome changes and benzene exposure a review. Reviews on environmental". Health Wada O editor. Scientific publications division. Freund Publishing House Ltd. Pab. 35010, Tel-Aviv - Israel 1/2: 5, 1979.

50. FRANKEL, S.; REITMAN, S.; SONNEWIRTH, A.C.: "Methods measuring hemoglobin concentration. Clinical laboratory methods and diagnosis". Gradwohl's 7th ed, C V Mosby Co, St. Louis 403, 1970.
51. FRASH, V.N.; YUSHKOV, B.G.; KARAULOV, A.V.; SKURATIOV, V.L.: "Mechanism of action of benzene on hematopoiesis". (Investigation hematopoietic stem cells) Iyull Ek sp Biol Med, 82: 797-799, 1976.
52. GEORGII, A.; VYKOUPII, K.F.; THIELE, J.: "Classification chronic myeloproliferative diseases by bone marrow biopsies, hematological and cytogenetic findings and clinical course in bone marrow biopsies update - new prospects for clinical diagnostics". Biblioteca Hematologica Ed Karger, 41, 1984.
53. GERARDE, H.W.; AHLSTRON, D.B.: "Toxicologic studies on hydrocarbons XI. Influence of dose on the metabolism of mono - alkyl derivatives of benzene". Toxicol Appl Pharmacol, 9: 185, 1966.
54. GOLDSTEIN, B.D.: "Hematotoxicity in human in Laskin S Goldstein B (Eds): Benzene Toxicity". New York, McGraw-Hill, 69, 1977 in Cronkite E.P., Sem Hematol, 1: 2, 1987.
55. GOPAL, R.: "Bone marrow in non-haematologic malignancies" Indian, J Cancer, 17: 245, 1980.
56. GREEN, J.D.; SNYDER, C.A.; LOBUE, J.; GOLDSTEIN, B.D.; ALBERT, R.E.: "Acute and chronic dose/response effect of benzene inhalation on the peripheral blood, bone marrow, and spleen of CD1 male mice". Toxicol Appl Pharmacol, 59: 204-214, 1981.
57. GROSSENBACHER, J.; LOB, M.: "Longitudinal study of the long term effects of occupational exposure to benzene" Schweiz Med Wochenschr, 50 (112): 1858-1859, 1982.

58. GRUCHY, G.C.: "Drug Induced blood disorders". Blackwell Scientific Publications, Melbourne, 1975.
59. GRUPPO, R.A.; LAMPKIN, B.C.; GRANGER, S.: "Bone marrow cellularity determination: comparison of the biopsy aspirate and buffy coat". Blood, 4: 29-31, 1977.
60. HANCOCK, G.; MOFFITT, A.; BECHE, E.B.H.: "Hematological findings among workers exposed to a benzene at a coke oven by product recovery facility". Arch Environ Health, 6: 414, 1984.
61. HERNANDEZ, N.L.; ROZMAN, C.: "Biópsia medular en la clinica hematologica". Salvat Editores S.A., Barcelona, España, 1980.
62. HIDDEMANN, W.; CLARKSON, B.; BUCHNER, T.: "Bone marrow a new parameter for quantitating therapy induced cytoreduction in acute leukemia". Blood, 50 (2) 216, 1982.
63. HIRAKI, K.; TRINO, S.; MIYOSHI, I.: "Development of subcutaneous sarcomas in Swiss mice repeated injections of benzene in olive oil". Cann, 54: 427, 1963.
64. IARC - INTERNATIONAL AGENCY RESEARCH CANCER: "IARC monographs benzene". WHO ed, 29: 93-148, 1974.
65. INFANTE, P.F.; WHITE, M.C.: "Projections of leukemia risk associated with occupational exposure to benzene". Am J Ind Med, 7: 403-413, 1985.
66. INWOOD, M.J.; JAMISHIDI: "Bone marrow needle modification" J Lab clin Med, 86: 535, 1975.

67. IRONS, R.D.; HECK, H.D.; MOORE, B.J.; MUIRHEAD, K.A.:
"Effects of short term benzene administration on
bone marrow cell cycle kinetics in the rat". Toxicol
Appl Pharmacol, 51: 399-409, 1979.
68. JAMISHIDI, K.; SWAIN, W.R.: "Bone marrow biopsy with
unaltered architecture a new biopsy device". J Lab
Clin Med, 77: 335, 1971.
69. JANDL, J.H.: "Blood testbook of hematology". Little
Brown and Company, Boston/Toronto, 1987.
70. JENKINS, L.J.; JONES, R.A.; SIEGEL, J.: "Long-term
inhalation screening studies of benzene, toluene,
oxylene and cumene on experimental". Toxicol Appl
Pharmacol, 16: 818, 1970.
71. JERINA, D.W.; DALY, J.W.: "Arene Oxides; a new aspects
of drug metabolism". Science, 185: 573, 1974.
72. KIRSHBAUM, A.; SIRONI, L.C.: "Influence of carcinogens
on the age incidence of leukaemia in the high
leukaemia strain of mice". Cancer Res, 2: 841, 1942.
73. KRAUSE, J.L.: "Bone marrow biopsy". Churchill
Livingstone, New York, Edinburg, London and Melbour-
ne, 1981.
74. KRAUSE, J.R.; KAPLAN, H.S.: "Bone marrow findings in
infections mononucleosis and mononucleosis like
diseases in the older adult". Scand Haematol, 28 (1)
15, 1982.
75. KRAUSE, J.R.; KAPLAN, H.S.: "An appraisal of the value
of bone marrow biopsy in the assessment of
proliferative lesions of the bone marrow"
Histopathology, 17 (5): 626, 1983.

76. KUCINSKI, B.: "Cubatão uma tragédia ecológica". Ciência Hoje, 1, Julho/Agosto, 11, 1982.
77. LAERUM, O.D.: "Reticulum cell neoplass in normal and benzene treated hairless mice". Acta Path Microbiol Scand Sect, 81: 57, 1973.
78. LEONG, B.K.J.: "Experimental benzene intoxication health in Laskin S, Goldstein B (eds): Benzene toxicity". McGraw Hill, New York, 2: 45-62, 1977.
79. LIGNAC, G.O.E.: "Die benzoleukemie bei menschen und weissen nausen III, zweite benzolversuchsreihe - von 54 mausen gehen 8 and leukaemia oder lymphoblastoma infiltrans alencaemicum". Zugrunde - fruhere Teerbenzol versuche. Krankheitsforsch 9, 426, 1932 citado IARC 1974.
80. LORAND-MEIZE, I.; SOUZA, C.A.; VASSALLO, J.: "Subtipos histológicos medulares na leucemia mielóide crônica, suas características clínicas e hematológicas". Boi SBHH, 142: 228, 1986.
81. LONGACRE, S.L.; KOCSIP, J.J.; WITNER, C.M.; LEE, E.W.; SAMMETT, D.; SNYDER, R.: "Toxicological and biochemical effects of repeated administration of benzene in mice". J Toxicol Environ Health, 7: 223-237, 1981.
82. MACFARLAND, W.; DAMESHEK, W.: "Biopsy of bone marrow with Vim-Silverman needle". J.A.M.A., 166: 1464, 1958.
83. MACGRAW, D.S.; JOYNER, R.F.; COLE, P.: "Excess leukemia in a refinery population". J Occup Med, 27 (3) 220-222, 1985.
84. MALLORY, J.B.; GALL, E.A.; BRICKLEY, W.Y.: "Chronic exposure to benzene (benzol) III the pathologic results". J Ind Hyg Toxicol, 21 (35): 5-377, 1939.

85. MARSH, J.C.: "chemical toxicity of the granulocyte in toxicology of blood and bone marrow". Richard D. Irons (ed), Raven Press, New York, 51-64, 1985.
86. MATTHEWS, D.E.; FAREWELL, V.T.: "Using and understanding medical statistics". Karger, Basel, New York, 1985.
87. MALTONI, C.; CONTI, B.; CONTI, G.: "Benzene a multipotencial carcinogen. Results of long term bioassays performed at the Bologna institute of Oncology". Am J Ind Med, 4 (5) 589, 1983.
88. MALVEZZI, M.; PASQUINI, R.: "Valores normais de leucócitos em população adulta de Curitiba". Bol SBHH, 9 (144) 83, 1987a.
89. MALVEZZI, M.; PASQUINI, R.: "Valores normais e variações fisiológicas de leucócitos no sangue periférico". Bol SBHH, 9 (144) 73, 1987b.
90. MENDES, R.: "Benzenismo - subsídios para a identificação de grupos de mais elevado risco de exposição". Bol SBHH, 9 (144) 135, 1987.
91. MIALE, J.B.: "Laboratory medicine in hematology 4th". C. V. Mosby Co, St. Louis 655, 1972.
92. MORAES, E.C.F.: "Benzenismo alterações não hematólogicas do Benzeno". Bol SBHH, 9 (144) 124, 1987.
93. MOSZCZYNSKI, P.: "Effects of organic solvents in the course of professional exposure on the E. Rosete test and skin reaction against distreptase and tuberculin". Folia Hematol, 109: 224, 1982.
94. MOSZCZYNSKI, P.; LISIEWICZ, J.: "Effects of work environment contaminated with benzene, toluene and xylene on acid phosphatase acticity in lymphocytes". Folia Hematol, 110: 948, 1983a.

95. MOSZCZYNSKI, P.; LISIEWICZ, J.: "The Nitroblue Tetrazolium reduction test in workers exposed to benzene and its homologues". Med Intern, 21: 217, 1983b.
96. MOSZCZYNSKI, P.; LISIEWICZ, J.: "N-acetyl-beta D Glucosaminidase in Lymphocytes of workers expose to benzene ad its homologues". J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol, 28: 11, 1984.
97. OLIVEIRA, H.P.: "Anemias Aplásticas e agentes mielotóxicos". Rev Méd do HSE, 23 (1), 1971.
98. OLIVEIRA, H.P.: "Anemias aplásticas e diseritropoiéticas em hematologia clínica". Ed Sarvier, 3ª ed, 215, 1985.
99. ORFANAKIS, N.G.; OSTHEND, R.E.; BISHOP, C.R.: "Normal blood leukocytes concentration calues". Am J Clin Pathol, 53: 647-651, 1970.
100. OSGOOD, E.F.; BROWNFEE, L.F.; OSGOOD, M.W.: "Total differential and absolute leukocytes counts and sedimentantion rates". Arch Intern Med, 64: 105-20, 1939.
101. OTT, M.G.; TOWNSEND, J.C.; FISHBECK, W.A.: "Mortality among inviduals exposed to benzene". Arch Environ Health, 33: 3-10, 1978 in Cronkite E.P. Sem Hematol, 1: 2-11, 1987.
102. PARKF, D.V.; WILLIAMS, R.T.: "Studies in detoxication: metabolism of benzene containin C14 - benzene". Biochem J, 54: 231, 1953.
103. PASQUALE, D.; CHIKKAPPA, G.: "Comparative evolution of bone marrow aspirate particle samears, biopsy imprints, and biopsy sections". Am J Hematol, 22: 381, 1986.
104. RINSK, R.A.; YOUNG, R.J.; SMITH, A.B.: "Leukemia in

- benzene workers". Am J Ind Med, 2: 217-245, 1981.
105. RODRIGUEZ FERNANDEZ, J.M.; MONT SERRAT, E.; ROZMAN, C.: "Sequential bone marrow biopsies update - new prospects for clinical diagnostics". Biblioteca Hematologica ed Karger, 50:81, 1984.
106. RUIZ, M.A.: "O problema da leucopenia em Cubatão". Bol SBHU, 135: 171, 1985.
107. RUIZ, M.A.: "Alterações hematológicas do benzenismo". Bol SBHU, 9: 129-134, 1987.
108. SANTANA, A.; VUGMAN, E.; FALCÃO, R.P.: "Benzenismo experimental". Bol SBHU, 9 (144): 148, 1987.
109. SAWAHATA, T.; RICKERT, D.E.; GREENLFE, W.F.: "Metabolism of benzene and its metabolites in bone marrow in toxicology of the blood and marrow target organ toxicology series". Richard D. Irons, Raven Press, New York, 141, 1985.
110. SEILING: "Benzol as a leukotoxin studies on degeneration and regeneration of blood and hematopoietic organs". Johns Hopkins Hospital Rep, 17: 83, 1916 in Cronkite E.P.: Sem Hematol, 1:2, 1987.
111. SNYDER, S.L.; WIENER, C.M.; LONGACRE, S.L.: "Biochemical toxicology of benzene in Hodgson, E.; Bend, J.R.; Philopot, R.M.; eds". Reviews in Biochemical Toxicology vol. 3, New York, Elsier/North-Holland, Publishing Co 123-153, 1981.
112. SOUZA, C.A.; FERRARI, M.L.L.; LORAND-METZE; SAAD, S. T.O.: "Correlação da citologia obtida pela técnica do "imprint" e histologia da medula por biópsia de agulha nos linfomas não Hodgkin". Bol SBHU, 7 (133): 89-94, 1985.

113. SOUZA, C.A.: "Acometimento da medula óssea em linfomas não Hodgkin do adulto e suas correlações clínicas e laboratoriais". Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Capinas - UNICMP, tese, 90 pp, 1986.
114. TAMIGAKI, M.; JAMRA, M.: "Parâmetros hematológicos normais em adultos e adolescentes". Rev Bras Pesq med Biol, 2: 384-402, 1969.
115. TAREEF, E.M.; KONICHALOVSKAYA, N.M.; ZORINA, L.A.: "Benzene leukaemias. Acta Un int Cancer, 19: 751 - 755, 1963.
116. THORPE, J.J.: "Epidemiologic survey of leukemia in persons potentially exposed to benzene". J Occup Med 16: 375, 1974.
117. TICE, R.R.; IVETT, J.L.: "Cytogenetic analysis of bone marrow damage in toxicology of the blood and bone marrow". ed Richard D. Irons, Raven Press, New York, 119-140, 1985.
118. TRICOT, G.; WOLF-PETERS, C.D.; VLIETINCK, R.; VERWILGHEN R.L.: "The importance of bone marrow biopsy in myelodysplastic disorders in bone marrow biopsies update - new prospects for clinical diagnostics". Karger, Biblioteca Hemathologica, 50, 31, 1984.
119. TSONGAS, T.A.: "Occupational factors in the epidemiology of the chemically - induced lymphoid and hemopoietic cancers in toxicology of the blood and bone marrow". ed Richard D. Irons, Raven Press, New York, 149-178, 1985.
120. VIANA, N.J.; POLAN, A.: "Lymphomas and occupational exposure". Lancet, 1: 1394-1395, 1979.
121. VIGLIANI, E.C.; SAITA, G.: "Benzene and leukaemia". N Engl J med, 271: 872, 1964.

122. WAITZ, R.; MAYER, R.; MAYER, S.; OBERLING, F.: "Étude de la reticuline dans les syndromes lymphoïdes de la moelle osseuse". Nouv Rev Fr Hématol, 11: 406, 1971.
123. WARD, C.D.; KUNA, R.A.; SNYDER, N.K.: "Subchronic inhalation toxicity of benzene in rats and mice". Am J Ind Med, 7: 457, 1985.
124. WAKAMATSU, C.T.: "Contribuição ao estudo da exposição profissional ao benzeno em trabalhadores em indústria de calçados, São Paulo-SP". Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, tese, 1976.
125. WICKRAMASINGHE, S.N.; BAIN, B.: "Blood and bone marrow - Systemic Pathologic". Churchill Livingstone, third ed, 69 (2), 1986.
126. WINEK, C.L.; COLLOM, W.D.: "Benzene and toluene fatalities". J Occup Med, 13: 259, 1971.
127. WINTROBE, M.M.: "Clinical hematology". 6th ed, Lea Febiger, Philadelphia, 260, 1967.
128. WINTROBE, M.M.; LEE, G.R.; BOGGS, D.R.: "Clinical hematology". 8th ed, Lea-Febiger, Philadelphia, 1981.
129. WOLF, M.A.; V.K.; MACCOLLISTER, D.D.: "Toxicological studies of certain alkylated benzenes and benzene A. M.A.". Arch Ind Health, 17:387, 1956.
130. ZACHARSCHI, L.R.; ELVERBACK, L.R.; LINMAN, J.W.: "Leukocyte counts in healthy adults". Am J Clin Pathol, 56:148-150, 1971.

X - APÊNDICES

APÊNDICE 1 - Valores Hematológicos Normais em Adultos
(Dacie, 1984)

Eritrócitos (homens)	$5.5 \pm 1.0 \times 10^{12}/l$
Hemoglobina (homens)	$15.5 \pm 2.5 \text{ g/dl}$
Hematócrito (homens)	$0.47 \pm 0.07 \text{ (l/l)}$
VCM	$85 \pm 8 \text{ fl}$
HbCM	$29.5 \pm 2.5 \text{ pg}$
CHbCM	$33 \pm 2 \text{ g/dl}$
Reticulócitos	$0.2 - 2.0\% \text{ (10 - 100 } \times 10^9/l)$
Leucócitos	$7.5 \pm 3.5 \times 10^9/l$
Contagem Diferencial	
Neutrófilos	$2.0 - 7.5 \times 10^9/l \text{ (40 - 75\%)}$
Linfócitos	$1.5 - 4.0 \times 10^9/l \text{ (20 - 45\%)}$
Monócitos	$0.2 - 0.8 \times 10^9/l \text{ (2 - 10\%)}$
Eosinófilos	$0.04 - 0.4 \times 10^9/l \text{ (1 - 6\%)}$
Basófilos	$0.01 - 0.1 \times 10^9/l \text{ (1\%)}$

- VCM - Volume Corpuscular Médio
HbCM - Hemoglobina corpuscular média
CHbCM - Concentração de Hemoglobina corpuscular média
fl - femtolitros
pg - picograma
g/dl - grama/decilitro
- abaixo

APÊNDICE 2 - Valores normais de Contagem Diferencial
observados em Aspirados de Medula Óssea
(Wintrobe, 1981)

	MÉDIA %	VARIAÇÃO OBSERVADA %	LIMITE DE CONFIANÇA 95%
SÉRIE GRANULOCÍTICA	53,6	49,2 - 65,0	33,6 - 73,6
MELOBLASTOS	0,9	0,2 - 1,5	0,1 - 1,7
PROMIELÓCITOS	3,3	2,1 - 4,1	1,9 - 4,7
MIELÓCITOS	12,7	8,2 - 15,7	8,5 - 16,9
METAMIELÓCITOS	15,9	9,6 - 24,6	7,1 - 24,7
BASTONETES	12,4	9,5 - 15,3	9,4 - 15,4
SEGMENTADOS	7,4	6,0 - 12,0	3,8 - 11,0
SÉRIE EOSINOFÍLICA	3,1	1,2 - 5,3	1,1 - 5,2
MIELÓCITOS	0,8	0,2 - 1,3	0,2 - 1,4
METAMIELÓCITOS	1,2	0,4 - 2,2	0,2 - 2,2
BASTONETES	0,9	0,2 - 2,4	0 - 2,7
SEGMENTADOS	0,5	0 - 1,3	0 - 1,1
BASÓFILOS e MASTÓCITOS	0,1	0 - 0,2	-
SÉRIE ERITROBLÁSTICA	25,6	18,4 - 33,8	15,0 - 36,2
PRÓERITROBLASTOS	0,6	0,2 - 1,3	0,1 - 1,1
E. BASÓFILOS	1,4	0,5 - 2,4	0,4 - 2,4
E. POLICROMÁTICOS	21,6	17,9 - 29,2	13,1 - 30,1
E. ORTOCROMÁTICOS	2,0	0,4 - 4,6	0,3 - 3,7
LINFÓCITOS	16,2	11,1 - 23,2	8,6 - 23,8
PLASMÓCITOS	1,3	0,4 - 3,9	0 - 3,5
MONÓCITOS	0,3	0 - 0,8	0 - 0,6
MEGACARIÓCITOS	0,1	0 - 0,4	-
CÉLULAS RETICULARES	0,3	0 - 0,9	0 - 0,8
RELAÇÃO G/E	2,3	1,5 - 3,3	1,1 - 3,5

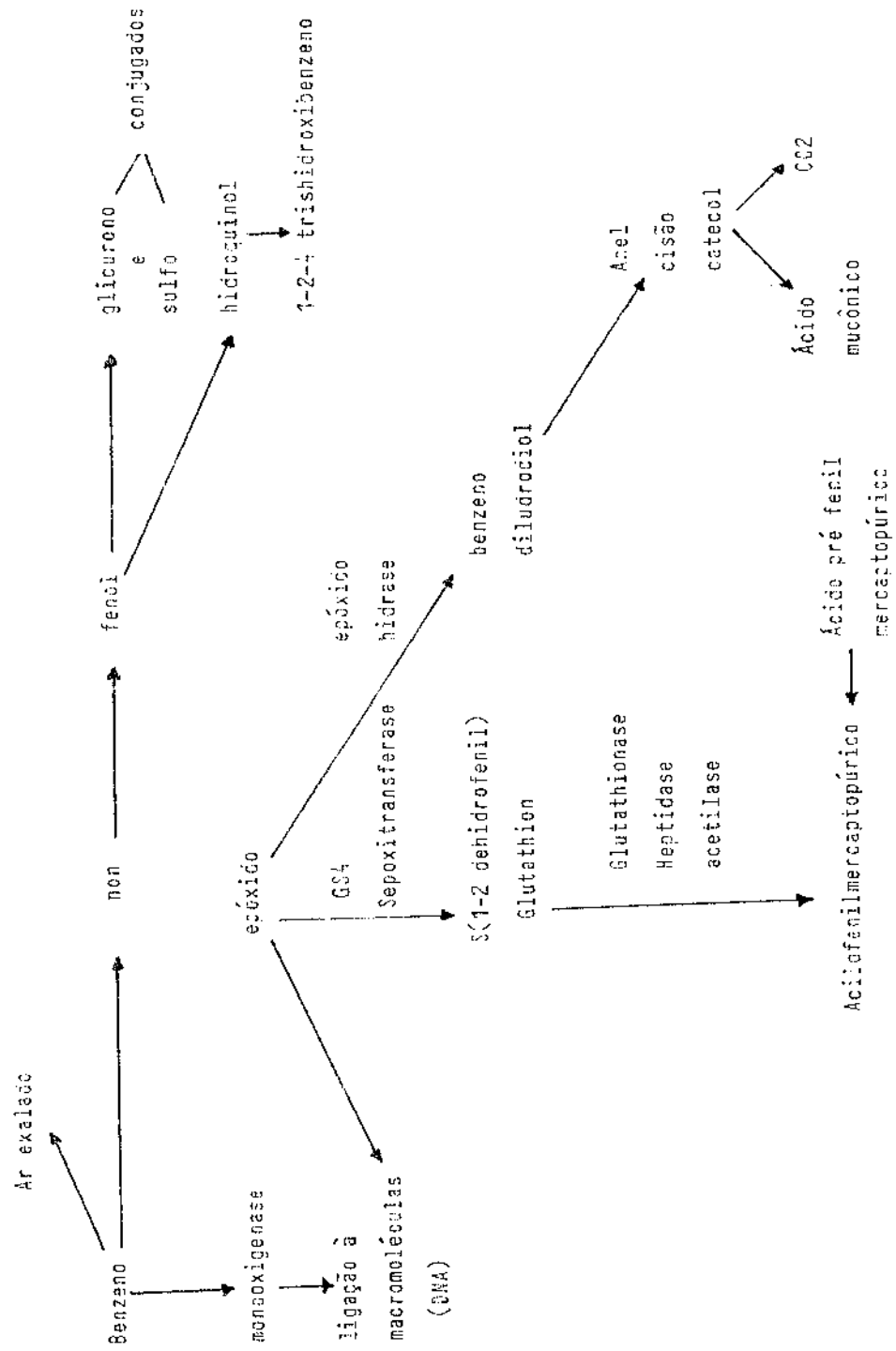
% - percentagem

APÊNDICE 3 - Valores normais de leucócitos em adultos,
segundo diversos autores.
(Malvezzi, 1987a)

AUTOR VARIÁVEL	OSGOOD (1939)		DACIE (1984)		ORFANAKIS (1970)		ZACHARSKI (1971)		BAIN (1975)		MALVEZZI (1987)	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Nº DE INDIVÍDUOS SEXO	500		-		291		507		100		258	
LEUCÓCITOS nº/dl	4000 - 11000		4600 - 11000		4300 - 10000		4100 - 10900		3487-9206	3839-10135	3611-9451	2867-10347
NEUTRÓFILOS %	-		40 - 75		-		47 - 79,5		-	-	39,9-72,7	38,8-75,2
nº/dl	-		2500 - 7500		1830 - 7250		2266 - 7676		1539-5641	1861-6821	1507-5907	1214-6254
SEGMENTADOS %	33 - 75		-		-		-		-	-	36,4-69,6	34,1-71,7
nº/dl	1500 - 7500		-		1100 - 6050		-		-	-	1349-5629	1116-5800
BASTONETES %	0 - 5		-		-		-		-	-	0 - 10	
nº/dl	0 - 200		-		100 - 2100		-		-	-	0 - 678	
LINFÓCITOS %	15 - 60		20 - 45		-		12,5 - 40		-	-	15,5 - 48,7	
nº/dl	1000 - 4500		1500 - 3500		1500 - 4000		832 - 3140		1158 - 3460		799 - 3307	
MONÓCITOS %	0 - 9		2 - 10		-		2 - 11		-	-	1,7 - 12,9	
nº/dl	0 - 800		200 - 800		200 - 950		123 - 804		221 - 843		80 - 856	
EOSINÓFILOS %	0 - 6		1 - 6		-		0 - 7,5		-	-	0 - 3,4	
nº/dl	0 - 400		40 - 400		0 - 700		0 - 492		25 - 590		0 - 552	
BASÓFILOS %	0 - 2		1		-		0 - 2		-	-	0 - 1,8	
nº/dl	0 - 200		0 - 100		0 - 150		0 - 156		0 - 134		0 - 123	

M - masculino; F - feminino; nº/dl - número/decilítro

APÊNDICE 4 - Biotransformação metabólica do Benzeno
(Ruiz, 1987)



APÊNDICE 5 - Aplasia Medular
Classificação Histológica
(Duhamel, 1978)

- Grau I - Hipoplasia Medular Moderada
- Grau II - Hipoplasia Medular Intensa
Aumento acentuado do Tecido Adiposo
- Grau III - Medula Desértica
Presença Unicamente de Tecido Adiposo