

Ana Regina Chinelato

**Monitoramento Citogenético em Indivíduos
Profissionalmente Expostos a
Gases Anestésicos**



1910000846



ANA REGINA CHINELATO

MONITORAMENTO CITOGENÉTICO EM
INDIVÍDUOS PROFISSIONALMENTE EXPOSTOS A
GASES ANESTÉSICOS



846/99

Dissertação apresentada para
obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Biológicas-Genética.

São José do Rio Preto - SP

1998

Orientador: Prof^a. Dr^a. *Nívea Dulce Tedeschi Conforti Froes*

Stephen Jay Gould



Desde a sala de aula da minha vida acadêmica

A Deus por tudo

Ans mras pms. Oqndr e Dmndr por teul prpriedade
lndus de condicões pms que en chegam m? qndr pms pmscepto e
principalmente pelo exemplo de quem a família, dedicando ao trabalho e
honestidade

Ans mras pms. Oqndr e Dmndr por teul prpriedade
lndus de condicões pms que en chegam m? qndr pms pmscepto e
principalmente pelo exemplo de quem a família, dedicando ao trabalho e
honestidade

“Nós somos produtos da história e temos que criar nossos
próprios caminhos neste que é o mais diversificado e interessante dos
universos concebíveis - um mundo indiferente a nossos sofrimentos e que,
portanto, nos proporciona o máximo de liberdade para prosperarmos ou
fracassarmos seguindo um caminho que nós mesmos escolhemos.”

Stephen Jay Gould

Dedico esta etapa da minha vida especialmente

À Deus, por tudo.

Aos meus pais, *Oneide e Dionísio*, por terem proporcionado todas as condições para que eu chegasse até aqui, pela compreensão e principalmente pelo exemplo de amor à família, dedicação ao trabalho e honestidade.

Aos meus irmãos *José Roberto, Carlos e Paulo e suas esposas* pelo incentivo e carinho em todos os momentos.

Aos meus queridos sobrinhos, *Rodrigo, Natália, Ana Cláudia, Isabela, Guilherme e Vitor*, pelo carinho e alegria, compreendendo muitas vezes a minha falta de tempo para as brincadeiras de infância e tornando os momentos difíceis mais agradáveis.



À Prof^a Dr^a Nivea Dulce Tedeschi Conforti Froes

Pela orientação científica, sem a qual não teria sido possível realizar esta dissertação, pelo carinho e confiança em mim depositados, pela sua compreensão, disposição à discussão e dedicação na transmissão de conhecimentos. Pelas críticas e sugestões, pelo incentivo, atenção, apoio e estímulo em todas as fases do desenvolvimento deste trabalho, e sobretudo, pela grande amizade que entre nós se estabeleceu além do convívio profissional. Pelos maus e bons momentos que passamos.

Meu sincero agradecimento.

Agradecimentos

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração direta ou indireta de muitas pessoas. Tento agradecer a cada uma delas.

Aos membros da banca examinadora deste trabalho, Professora Doutora do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UNESP - Campus de Botucatu, *Daisy Maria Fávero Salvadori* e Professor Doutor do Departamento de Química e Geociências do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da UNESP - Campus de São José do Rio Preto, *Gustavo Orlando Bonilla Rodriguez* por aceitarem o convite para participar desta banca e pela atenção com que leram e avaliaram a proforma deste trabalho e pelas valiosas sugestões na elaboração da forma definitiva.

Ao Prof. Dr. *José Osmar Gaspar*, professor do Departamento de Botânica da UNESP - São José do Rio Preto, pela orientação durante o afastamento da Prof^a Nívea para realizar seu Pós-doutoramento no exterior.

Ao Prof. Dr. *Fernando Ferrari*, professor do Departamento de Ciências da Computação e Estatística, e ao Prof. Dr. *Clóvis de Araújo Perez*, professor da UNIFESP, pelo auxílio na realização da análise estatística dos resultados.

Aos Professores do Departamento de Biologia, especialmente as Professoras Doutoras *Ana Elizabete Silva* e *Cláudia Márcia Aparecida Carareto* pelo incentivo e ajuda em vários momentos deste trabalho.

Ao *Josué Rodrigues dos Santos* e *Maria Helena Carabolante* pelo auxílio técnico e pela amizade.

À *Kikue Kamoí de Oliveira* e *Maria Aparecida do Carmo Costa*, funcionárias da enfermaria, que com muita paciência e presteza, auxiliaram na obtenção das amostras de sangue.

Aos médicos do Hospital de Base, Beneficência Portuguesa, Nossa Senhora da Paz que concordaram em participar da amostra e aos funcionários e amigos que participaram da amostragem como controles.

Aos funcionários da seção de Pós-graduação, Biblioteca e Pólo Computacional, pela paciência e dedicação com que sempre me atenderam e aos funcionários dos Departamentos de Biologia e Botânica - Olga, Simone, Neusa, Laura, Ademir, por todos os favores prestados.

À Márcia Cristina Donegá, sempre presente em muitos momentos bons e ruins, com uma palavra amiga.

Às minhas amigas de graduação, Ana Roberta, Renata e Valquíria, cuja feliz convivência me ensinou a não levar a vida tão a sério, e com bom humor me incentivaram durante e após o nosso curso.

Às amigas da "salinha" Ana Paula, Fátima, Lígia, Patrícia, Soraia e Valéria, pela amizade e pelos bons momentos, que tornaram o curso de pós-graduação mais agradável.

Às amigas dos Laboratórios de Monitoração de Populações Expostas e Epidemiologia Molecular, Andréa, Grasiela, Rosa e estagiárias, pela amizade, companheirismo e apoio constantes.

À Paula, que me auxiliou na implantação do novo protocolo de cultivo de culturas e na fase experimental, mas principalmente pelo companheirismo e pela amizade que muito me ensinou.

Aos amigos, da Pós-graduação ou não, pelo companheirismo, amizade e apoio em todas as horas.

À Érika Stupiello, pela ajuda e incentivo constantes mas principalmente pela amizade.

À Direção do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto - UNESP, pelas condições materiais que possibilitaram a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.



ÍNDICE

I. Introdução	1
1. Considerações sobre o tema	1
2. Metodologia da pesquisa	7
3. Objetivos	18
II. Metodologia e Métodos	19
1. Caracterização da pesquisa	19
2. Metodologia utilizada	23
3. Análise estatística	24
4. Análise qualitativa	26
III. Resultados	28
“A pesquisa deve ser corajosa. E deve ser feita com humildade e regada com muita paciência e perseverança, pois são os resultados iguais de experiências exaustivamente repetidas que irão dar confiabilidade aos resultados finais. Confiança em si e confiança nos resultados das próprias pesquisas permitem resistir às charcotas dos que querem elevar-se desmoralizando os outros, pois destruir é bem mais fácil do que construir. fica patente que o bom pesquisador, em qualquer área, é essencialmente um virtuoso que cultiva a paciência, a perseverança, a prudência, a humildade e a intuição, além da confiança e da concentração. Tudo isto, posto em prática, leva à sabedoria, que é o conhecimento da realidade”.	
IV. Referências bibliográficas	83
V. Resumo	96
VI. Abstract	97

ÍNDICE

I. Introdução.....	1
1. Considerações gerais sobre anestésicos.....	1
2. Relação entre anestésicos e indução de mutagenicidade carcinogenicidade.....	7
2.1. Monitoramento citogenético como ferramenta na detecção de populações de risco.....	9
2.2. Relação entre anestésicos e doenças variadas.....	14
II. Objetivos.....	18
III. Materiais e Métodos.....	19
1. Caracterização da amostra.....	19
2. Metodologia citogenética.....	23
3. Análise citogenética.....	24
4. Análise estatística.....	26
IV. Resultados.....	28
1. Aberrações cromossômicas.....	28
2. Trocas entre cromátides irmãs.....	44
V. Discussão.....	60
1. Ação genotóxica dos anestésicos.....	60
2. Importância do metabolismo na resposta individual.....	67
3. Ação dos gases anestésicos sobre o ciclo celular e TCIs.....	74
4. Efeitos adversos dos anestésicos na espécie humana.....	78
VI. Referências bibliográficas.....	83
VII. Resumo.....	96
VIII. Abstract.....	97

I . Introdução

1 . Considerações gerais sobre anestésicos

Até 1842, os procedimentos cirúrgicos não eram comuns, bem como a compreensão da fisiopatologia das doenças e do que era racional para o seu tratamento. Técnicas assépticas e a prevenção das infecções das feridas eram quase desconhecidas. Além disso, a falta de anestesia satisfatória constituía grande obstáculo. Devido a todos esses fatores, tentavam-se poucas operações e a mortalidade era freqüente. Tipicamente, a cirurgia tinha natureza de emergência, como por exemplo, a amputação de um membro devido a uma fratura exposta (SMITH & WOLLMAN, 1987).

As primeiras tentativas de evitar-se a dor humana começaram com a utilização de plantas como a papoula, mandrágora e meimendo e também de substâncias como o álcool. Posteriormente, com o estudo detalhado sobre a ação dessas substâncias foi possível verificar que nenhuma delas continha poder anestésico, talvez os elementos mágicos e a charlatanice estivessem associados à preparação de tais sedativos. Assim sendo, a luta para diminuir a dor continuava. Ao terminar o século XVIII o trabalho de muitos pesquisadores orientava-se para o estudo da química dos gases: J. Block estudou o gás carbônico em 1750; Cavendish identificou o hidrogênio em 1776; Joseph Priestley descobriu também nesse ano o óxido nitroso. Em 1799, Humphrey Davy realizou experimentos com o gás carbônico e o óxido nitroso, utilizando animais e homens. As propriedades práticas do óxido nitroso foram reconhecidas por ele, porém a sociedade não as aceitava. Em 1818, Michael Faraday descreveu os efeitos do éter. Os médicos, principalmente na América do Norte, estavam familiarizados com esses



efeitos que causavam estado de embriaguez e sono. Somente em 1842, Crawford Long, um médico que conhecia os efeitos do éter desde sua juventude, apreciou as possibilidades dessa substância na cirurgia, mas o dentista William Morton recebeu o crédito pela introdução da anestesia. Assim, muitas outras substâncias com efeitos anestésicos foram sendo testadas (COLLINS, 1978). Ao mesmo tempo que a preocupação com o bem estar do paciente aumentava, a química e a medicina progrediam simultaneamente, permitindo a preparação de uma droga quimicamente pura e depois, seu uso com certo grau de segurança (SMITH & WOLLMAN, 1987).

A anestesia é considerada uma invenção americana (COLLINS, 1978; MILLER, 1989) e só passou a ser reconhecida como especialidade médica pelas instituições após muitos anos de serviços de saúde prestados à comunidade pelos meios universitários e pelas associações profissionais de médicos. Os termos anestesiológista, para designar o médico especialista em anestesia, e anesthesiologia, como o ramo da medicina que trata da ciência e da arte relacionadas com a anestesia, foram lançados em 1944, quando a Sociedade Americana de Anestesistas, fundada em 1936, mudou o seu nome para Sociedade Americana de Anesthesiologists. Todavia, os termos haviam sido propostos desde 1902 para distinguir o anestesista, um técnico, do anesthesiologist, uma autoridade científica em anestesia e anestésicos (CREMONESI, 1987).

Embora exista uma variedade muito grande de agentes anestésicos inalados, muitos já foram abandonados ou estão em crescente desuso por apresentarem características desfavoráveis ao uso clínico (Figura 1a). Assim, o éter dietílico e o divinílico não são mais utilizados por serem inflamáveis. Do mesmo modo, foram abandonados o cloreto de etila, pois além de inflamável possui acentuada ação depressora sobre o coração e o



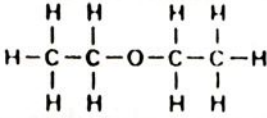
clorofórmio, por causar necrose hepática. O antigo uso desses anestésicos conduzia a um quadro clínico grave e a evolução para o óbito ocorria por necrose amarela do fígado. Além desses, também figuram o tricloroetileno, abandonado em decorrência de sua toxicidade relacionada com impurezas, produtos metabólicos e principalmente com substâncias formadas por reação com a cal sodada, como lesões dos nervos cranianos, mais comumente do quinto par. O metoxiflurano ainda existe para uso clínico, embora sua utilização seja cada vez menor, pois apresenta grande solubilidade no sangue, acarretando um longo período de indução e recuperação anestésica, o que torna-o um anestésico de difícil manuseio. Além do mais, sua alta afinidade com gorduras faz com que permaneça muito tempo no organismo, tornando-o disponível para os processos de biotransformação. Do total administrado, 50% sofrem algum tipo de transformação no fígado, sendo que dos produtos formados, têm importância o ácido oxálico e o flúor, responsáveis pela nefrotoxicidade do metoxiflurano (TERRA & EUGÊNIO, 1989).

Dentre os anestésicos inalados, três halogenados são os mais usados atualmente (Figura 1b). O halotano ou fluothane (2-bromo-2-cloro-1,1,1 trifluoretano) foi estudado por Raventós em 1956, tendo sido introduzido em clínica nesse mesmo ano por Johnstone, Bryce-Smith e O'Brien. É um hidrocarboneto halogenado, apresentando aspecto líquido incolor, de cheiro adocicado, que reage com vários metais e com a borracha, porém não com o polietileno; também reage com a cal sodada, mas não forma produtos tóxicos (TERRA & EUGÊNIO, 1989). A solubilidade do halotano na borracha pode, teoricamente, diminuir a velocidade de indução e recuperação da anestesia, como consequência da captação ou liberação do anestésico nos componentes de borracha do circuito de anestesia (MARSHALL & WOLLMAN, 1987). O halotano atravessa rapidamente a

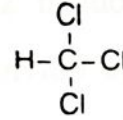


a)

Éter dietílico



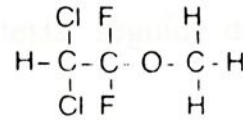
Clorofórmio



Tricloroetileno



Metoxiflurano

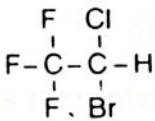


Óxido nitroso

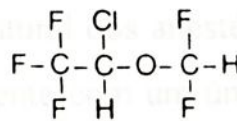


b)

Halotano



Isoflurano



Enflurano

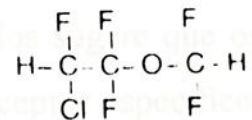


Figura 1: Estruturas químicas dos diversos anestésicos inalados: **a)** que já foram de uso clínico; **b)** atualmente em uso. (Adaptado de MILLER, 1989).

membrana alveolocapilar. Do sangue, primeiro se dirige para órgãos como o coração e o cérebro, com irrigação sangüínea abundante. A eliminação do halotano é feita, predominantemente, por via pulmonar e uma pequena porcentagem é excretada pela pele.

O enflurano ou ethrane (éter 2-cloro-1,1,2 trifluoretil-di-flúor metílico), é um outro halogenado usado. Foi desenvolvido em 1965 por Terrel e introduzido na clínica médica em 1973. Quimicamente é um líquido incolor, com odor suave e doce. Não reage com metais nem com a cal sodada. Esse anestésico induz rapidamente a anestesia, seguida de rápida recuperação (TERRA & EUGÊNIO, 1989).

O isoflurano ou forane (éter 1-cloro-2,2,2 trifluoretildifluormetílico) é um isômero do enflurano. Só foi introduzido recentemente, por ser de difícil obtenção comercial e pelas suspeitas de efeitos carcinogênicos. Sua liberação para uso em anestesia só ocorreu depois que vários estudos afastaram essa suspeita. Líquido incolor, de odor etéreo, não reage com metais nem com a cal sodada. Dentre os anestésicos halogenados de uso clínico, é o que possui menor tempo de indução e recuperação de anestesia. A eliminação é predominantemente realizada por via pulmonar (TERRA & EUGÊNIO, 1989).

A diversidade estrutural dos anestésicos inalados sugere que os mesmos não interagem diretamente com um único local receptor específico, entretanto existe uma relação entre a potência anestésica e a solubilidade lipídica. Como a administração anestésica pode induzir, rapidamente, a inconsciência ou o despertar após a interrupção da anestesia, devem ocorrer importantes alterações físicas ou bioquímicas dentro de segundos, porém essas alterações produzidas pelos anestésicos só são significativas em doses clínicas e não em elevados níveis anestésicos (MILLER, 1989).



Os agentes inalados rompem a transmissão de impulsos nervosos que ocorre principalmente na superfície dos nervos, assim, as membranas sináptica e axonal são consideradas geralmente como locais primários da ação anestésica. Os estudos eletrofisiológicos revelam os efeitos de anestésicos sobre o fluxo de íons através de membranas excitáveis. Em axônios isolados, a condução do impulso nervoso exige o fluxo sequencial de íons de sódio e potássio através de canais seletivos transmembrana. A interação com lipídios da membrana é um processo dinâmico e as moléculas anestésicas permutam rapidamente entre as faces da membrana. Os anestésicos podem penetrar toda a profundidade da bicamada lipídica, exercendo uma pressão sobre os canais iônicos necessária para a transmissão do impulso e, desse modo inibir sua abertura ou acelerar seu fechamento. Além disso podem também espessar a bicamada da membrana, achado que levou à sugestão de que o aumento de espessura, induzido pelo anestésico, desestabiliza os canais abertos formados durante a excitação elétrica (MILLER, 1989).

Outros estudos sugerem que os anestésicos aumentam a mobilidade dos componentes da membrana. Os agentes inalados produzem um aumento, relacionado com a dose, na mobilidade das cadeias de ácidos graxos em uma bicamada fosfolipídica. Com relação às proteínas da membrana, existem poucas informações sobre suas interações com os anestésicos. A maioria das experiências empregou outras proteínas solúveis como sistemas modelo para o estudo de efeitos anestésicos. Assim sendo, descobriu-se que um local de união pode ser ocupado por mais de uma molécula anestésica, uma proteína pode ter muitos locais de união, tanto específicos como inespecíficos para os anestésicos e que nem todas as regiões não polares de uma proteína podem agir como locais de união. Pode haver necessidade de movimentos protéicos cooperativos para permitir a



passagem de um anestésico para o seu local de união. Inversamente, a união de agentes inalados à proteína pode dar origem a alterações conformacionais e essas perturbações podem ser transmitidas a uma parte da molécula protéica relativamente distante do local de união anestésica. A interação de agentes inalados com enzimas pode refletir-se indiretamente em alterações na atividade enzimática (MILLER, 1989).

Com a importância da membrana para o processo de condução, o citoplasma parece representar um papel relativamente secundário na condução a curto prazo de impulsos nervosos. Contudo, os anestésicos podem agir indiretamente em um local citoplasmático da membrana. Por exemplo, os anestésicos podem deprimir a atividade acumuladora de íons das mitocôndrias alterando, desse modo, os níveis citoplasmáticos de íons livres que podem influenciar por sua vez, as propriedades de condutância de membranas excitáveis e alterar a liberação pré-sináptica de neurotransmissores. Na verdade, os agentes inalados inibem a atividade mitocondrial e o metabolismo cerebral, mas não diminuem o teor de substâncias ricas em energia no cérebro (MILLER, 1989).

2 . Relação entre anestésicos e indução de mutagenicidade e carcinogenicidade

Nos últimos anos, os pesquisadores tornaram-se cada vez mais interessados no potencial mutagênico de anestésicos inalados. Primeiro, porque os processos de mutagênese e a carcinogênese estão relacionados; segundo, porque os mutagênicos presentes no ambiente podem apresentar



uma ameaça à integridade do genoma humano e, assim, para as gerações futuras.

Considera-se mutagênico todo o agente capaz de induzir alterações no material genético de uma célula, as quais não resultam de segregação ou recombinação. Muitas vezes, os compostos químicos não são capazes de induzir, por si só, lesões no DNA e necessitam de reações metabólicas que os tornam altamente eletrofílicos e, portanto, altamente capacitados em interagir com os centros nucleofílicos das moléculas-alvo, incluindo o DNA, o RNA e as proteínas. Depois de ocorrida a união, as células podem permanecer inativadas, evoluir para a proliferação celular e o desenvolvimento de tumores ou serem reparadas (MILLER, 1989).

As alterações moleculares são sucedidas por alterações bioquímicas e fenotípicas das células. Esquemáticamente, consideram-se pelo menos três etapas desde o momento da agressão química até o aparecimento da neoplasia: a iniciação, a promoção e a progressão. A duplicação celular pode aumentar a frequência de mutações espontâneas por erros que ocorrem durante esse processo. O potencial para iniciação é aumentado durante a duplicação porque muitos desses genes estão sendo transcritos ao mesmo tempo em que estão sendo expostos a mutagênicos. É na etapa de iniciação que a substância química, potencialmente oncogênica, é processada metabolicamente pelo hospedeiro acoplada a macromoléculas como o DNA, onde fixa a lesão bioquímica e transforma as células-alvo em células iniciadas. Estas, por sua vez, são células alteradas, mantidas sob controle por mecanismos homeostáticos. A etapa da promoção é aquela na qual as células iniciadas têm condições de proliferar sob a forma tumoral. A progressão é entendida como a etapa em que algumas neoplasias sofrem alterações qualitativas em seu fenótipo, por exemplo transformando-se de



benignas em malignas, possivelmente por seleção clonal (CAMARGO, 1991).

Todos os dias, danos desse tipo são induzidos no DNA, portanto, as células devem possuir enzimas eficientes que participam dos processos de reparo do DNA para corrigir tais danos e reestabelecer as funções normais. Entretanto, se essas enzimas forem mutantes, ou se os indivíduos apresentarem mecanismos deficientes no reparo do DNA, as mutações poderão ocorrer em genes específicos, predispondo o indivíduo ao desenvolvimento do câncer.

A semelhança estrutural fornece indícios circunstanciais de uma associação entre anestésicos e carcinógenos químicos. O metoxiflurano, o enflurano e o isoflurano são α -haloéteres, da mesma forma que o são substâncias químicas não-anestésicas mas carcinogênicas, como o bis(clorometil) éter, clorometil metil éter e bis(α -cloroetil) éter (BADEN *et al.*, 1976; MILLER, 1989). O halotano e o clorofórmio são haletos de alquila; o iodeto de metila, o brometo de butila e o cloreto de butila são do mesmo grupo químico e se mostraram carcinogênicos em organismos animais (Figura 2). Entretanto, mínimas diferenças químicas estruturais fornecem, freqüentemente, grandes alterações na função desses compostos (BADEN & SIMMON, 1980; MILLER, 1989).

2.1. Monitoramento citogenético como ferramenta na detecção de populações de risco

Nos últimos anos, o biomonitoramento humano tem sido empregado como um instrumento para identificar e quantificar o risco a



exposições perigosas. Sua aplicação tem recebido atenção especial, principalmente no que se refere aos riscos do desenvolvimento de câncer, quando o homem se expõe acidental, ocupacional ou terapêuticamente a substâncias que possam lesar seu material genético (MILLER, 1989).

Inúmeros são os sistemas de testes que detectam a capacidade mutagênica de um composto, empregando vários organismos. Os testes com microorganismos são rápidos, sensíveis, econômicos e reproduzíveis, apresentando resultados confiáveis na identificação da atividade biológica e boa correlação do potencial carcinogênico em animais superiores. Entretanto, algumas vezes essa associação falha, pela simplicidade do organismo ou pela sua capacidade metabólica. Assim, em geral, são mais relevantes os ensaios feitos *in vivo*, capazes de detectar mutações gênicas ou cromossômicas, usando plantas, insetos e mamíferos (MILLER, 1989).

As células de mamíferos em cultura apresentam inúmeras vantagens; fácil padronização das condições experimentais, possibilidade de aplicar o tratamento em qualquer fase do ciclo celular e os ensaios são econômicos e de boa reprodutibilidade. Além disso, o material é relativamente uniforme em seus requisitos metabólicos, em seu comportamento e na organização dos cromossomos e do seu DNA. Os testes citogenéticos utilizam células cultivadas ou retiradas de animais ou indivíduos submetidos à exposição experimental, profissional, terapêutica ou acidental a agentes xenobióticos.

Os danos ao material genético podem ser avaliados nos tecidos somáticos e nas células germinativas. As aberrações cromossômicas constituem uma fração relevante dos danos causados por agentes físicos, químicos e biológicos no material genético que são, então denominados de



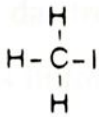
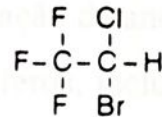
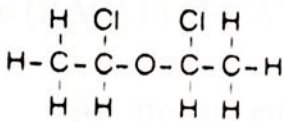
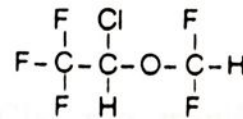
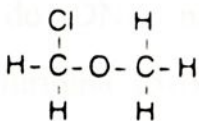
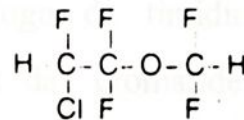
Carcinogênicos**Anestésicos Inalados****Iodeto de metila****Halotano****Bis(-clorometil)éter****Isoflurano****Clorometil metil éter****Enflurano**

Figura 2: Fórmulas estruturais de diversos carcinógenos humanos conhecidos e agentes anestésicos inalados. (Adaptado de MILLER, 1989).

agentes clastogênicos. Muitos compostos capazes de causar mutações gênicas também causam mutações cromossômicas. Assim, é imprescindível a inclusão de testes citogenéticos na avaliação do potencial genotóxico de um composto. Suas vantagens são a grande experiência e habilidade técnica já existentes em muitos laboratórios na execução desses ensaios, bem como a variedade de marcadores citogenéticos que podem ser incorporados, tais como o estudo das trocas entre cromátides-irmãs e avaliação de aneuploidia e poliploidia. Os linfócitos do sangue circulante de mamíferos, inclusive os do homem, são um ótimo sistema para se testar uma substância quanto à sua capacidade em produzir aberrações cromossômicas. Supondo-se que haja uma correlação entre o dano induzido no sangue e em outras células somáticas, os linfócitos serviriam como um sistema sentinela para grupos de alto risco (RABELLO-GAY, 1991).

As trocas entre cromátides-irmãs (TCIs) são manifestações citológicas de quebras que ocorrem no mesmo loco das duas cromátides de um cromossomo, seguidas de intercâmbio e reparo. A marcação diferencial das cromátides-irmãs envolve a ocorrência de um ou dois ciclos de duplicação do DNA na presença de um análogo da timidina, a 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU), de forma que uma das cromátides possua número de cadeias polinucleotídicas do DNA com incorporação de 5-BrdU diferente da outra. A incorporação da 5-BrdU altera o empacotamento da molécula, tornando-a menos condensada e reduzindo sua afinidade pelo corante, após tratamentos especiais. Desse modo a cromátide com menor número de cadeias de DNA substituídas manifesta maior afinidade pelo corante, o que resulta na coloração diferencial das cromátides-irmãs. Embora o mecanismo molecular que leva à formação de TCIs não esteja bem entendido, acredita-se que possa refletir danos e/ou ação do mecanismo de



reparo. Assim, inúmeros agentes clastogênicos podem ser identificados pela capacidade de aumentarem as frequências de TCIs em experimentos *in vivo* e *in vitro*, tornando-se esse teste um dos mais comumente utilizados para a avaliação da potencialidade mutagênica (VARELLA-GARCIA, 1991).

A exposição a agentes nocivos do meio ambiente pode causar uma variedade de efeitos danosos à saúde. Alguns deles são expressos imediatamente e outros levam anos para se desenvolver. Esses últimos causam maior preocupação porque, devido a expressão tardia dos problemas de saúde, muitas pessoas podem ter sido afetadas antes mesmo do problema da exposição ser identificado e controlado. Efeitos tardios da exposição à radiação ionizante são bem conhecidos e incluem a indução de câncer, doenças genéticas, desordens no desenvolvimento e outras anormalidades, todavia o mesmo nem sempre ocorre com relação aos compostos químicos, ainda que eles representem uma ameaça ao material genético, principalmente de populações expostas (AU, 1991).

Existe uma preocupação crescente sobre possíveis efeitos mutagênicos e carcinogênicos de agentes genotóxicos em populações humanas expostas ocupacionalmente, acidentalmente ou por estilo de vida. Infelizmente, existem poucos métodos diretos para se medir mutações ou outras formas de induzir danos em seres humanos expostos a compostos com potencial mutagênico ou carcinogênico. Um dos mais usados é a observação, através do microscópio óptico, de alterações cromossômicas em linfócitos do sangue periférico de indivíduos expostos (CARRANO & NATARAJAN, 1988). Os linfócitos estão em um estágio não proliferativo e têm vida média de aproximadamente quatro meses. Portanto, podem acumular danos de repetidas exposições, tornando-se, assim, células ideais para a detecção de danos resultantes da exposição crônica a baixas doses de



agentes tóxicos. O uso de ensaios que detectam aberrações cromossômicas em linfócitos do sangue periférico indicam que este é um dos mais sensíveis e relevantes testes para identificação de agentes mutagênicos, carcinogênicos e talvez teratogênicos (AU, 1991). Um aumento na frequência de danos cromossômicos pode servir como um indicador da exposição a agentes genotóxicos e um sinal do potencial risco para o desenvolvimento do câncer (SORSA *et al.*, 1990).

2.2. Relação entre anestésicos e doenças variadas

Em 1967, VAISMAN fez o primeiro estudo com pessoal de sala de cirurgia, demonstrando efeitos deletérios no bem-estar geral resultante da exposição crônica ao ambiente do centro cirúrgico. Foi notada uma incidência relativamente alta de cefaléia, irritabilidade, náusea, prurido e fadiga (COLLINS, 1978; CREMONESI, 1987). Contudo, outros aspectos adversos como períodos longos e irregulares de trabalho e estresse mental devem ser considerados.

Com relação à ocorrência de doenças hepáticas e renais, evidenciou-se uma frequência maior entre equipes do centro cirúrgico em relação a grupos controles, sendo o risco da equipe exposta duas vezes superior em comparação ao da equipe não exposta; além disso, foi relatada incidência de câncer cerca de duas vezes maior nas pessoas que trabalham na sala de cirurgia, principalmente anestesiológistas (BADEN *et al.*, 1976; SNOW, 1983, RAY & DRUMMOND, 1991).

O halotano pode ser o agente causativo de injúrias hepáticas que variam de branda, insultos agudos em aproximadamente 20% dos pacientes e a hepatite fulminante, que é chamada de doença rara, com uma incidência de 1 : 30.000 ou 1 : 35.000; entretanto ela aumenta para 1 : 10.000 quando o

halotano é usado em sequência com outros anestésicos. A taxa de 7 : 10.000 é encontrada após múltiplas exposições ao halotano. Embora nenhum dos produtos finais das vias metabólicas tenha se mostrado tóxico por si, produtos intermediários da biotransformação podem ser os responsáveis pelo dano hepático (MARIER, 1982; RAY & DRUMMOND, 1991; ELLIOTT & STRUNIN, 1993; LIND *et al.*, 1994). Estes problemas aparecem principalmente em mulheres especialmente obesas e geralmente com mais de 40 anos, que são extensivas metabolizadoras do halotano, em comparação aos homens (RAY & DRUMMOND, 1991). Como a meia vida do bromo é de 12 dias, a sua liberação ou de seus derivados, estocados em tecido adiposo pode ocorrer até muitos dias após a anestesia. Portanto, a obesidade pode ser um fator importante na potencialização dos efeitos metabólicos adversos. O mecanismo de toxicidade não é inteiramente conhecido, mas pode ser o resultado do acúmulo de metabólitos tóxicos e produção de reativos intermediários, levando à hipersensibilidade ou resposta imune. Os efeitos parecem obedecer uma relação dose-resposta, entretanto, a variabilidade interindividual é bastante grande, variando de 2,4 a 17,3% em gêmeos idênticos e 2,9 a 70,0% em gêmeos fraternos (MARIER, 1982).

A exposição ocupacional é claramente capaz de influenciar adversamente o sêmen humano, ainda que poucos estudos tenham tentado avaliar se as características anormais do sêmen estão associadas com abortos espontâneos. Dadas as observações de que a exposição materna a gases anestésicos poderia aumentar o risco de abortos espontâneos, vários estudos da década de 70 enfocaram a possibilidade de que a exposição paterna aos gases anestésicos poderia produzir um efeito similar. Sete dos oito estudos foram publicados entre 1974 e 1981, basearam-se em pesquisas com profissionais da área da saúde, geralmente dentistas ou médicos. Todos foram questionados sobre sua exposição e resultados de gravidezes; o risco

de aborto variou de 5,1 a 13,2%. Tal variação pode ser devida a heterogeneidade das populações, à não resposta ao questionário ou ao relato errôneo. De todo modo, a maioria desses estudos encontrou aumento de risco para os pais expostos aos agentes anestésicos. Um fator importante é o uso de fumo ou álcool pelo pai, que pode também aumentar o risco de abortos espontâneos (SAVITZ *et al.*, 1994).

Um estudo comparando a contagem e a morfologia de espermatozoides do sêmen de 46 anestesiológicos e 26 controles mostrou não haver diferenças relacionadas à exposição a gases anestésicos. Entretanto, os hospitais amostrados nesse estudo usavam modernos equipamentos de purificação de ar. Relatos anteriores demonstrando efeitos significantes da exposição paterna, foram conduzidos entre anestesiológicos e dentistas que trabalhavam em salas com altas concentrações de gases anestésicos. A concentração de anestésicos em tais ambientes era de 10 a 100 vezes mais altas do que os níveis encontrados em salas com sistema de purificação (WYROBEK *et al.*, 1981).

Apesar dos relatos acima citados, a relação entre a exposição a anestésicos e a incidência de doenças crônicas, entre elas, problemas hepáticos e renais não foi demonstrada no estudo de GUIRGUIS *et al.* (1990). Além disso, nenhum dos anestésicos inaláveis, atualmente em uso tem qualquer efeito nefrotóxico direto conhecido. Entretanto, como os anestésicos voláteis são fluorados, o que reduz sua inflamabilidade, eles podem, na teoria, ser potencialmente nefrotóxicos. O rim é especialmente susceptível a danos por drogas ou toxinas por ser um órgão de grande perfusão e ocorrer um aumento da concentração de compostos nas células tubulares renais durante a absorção e excreção. A concentração de íons flúor após a aplicação da anestesia prolongada com halotano ou isoflurano ocorre



e está relacionada diretamente a dose do anestésico (MURRAY & TRINICK, 1992).



II . Objetivos e Métodos

Em virtude dos dados contraditórios apresentados na literatura, da variabilidade individual existente quanto a resposta a diferentes agentes mutagênicos e/ou carcinogênicos e das diferenças entre as condições de trabalho de anestesiológicos utilizados nos estudos mencionados anteriormente e a realidade brasileira, este trabalho teve por objetivo:

- 1) analisar, citogeneticamente, os linfócitos cultivados desses profissionais para a investigação da frequência de aberrações cromossômicas e de troca entre cromátides irmãs;
- 2) verificar a possível interferência dos componentes químicos dos anestésicos na duração da cinética celular, por meio dos parâmetros de índices mitóticos e de proliferação celular e
- 3) contribuir para o esclarecimento do risco genotóxico associado à exposição ocupacional a anestésicos.

III . Materiais e Métodos

1 . Caracterização da amostra

O estudo citogenético foi realizado em vinte indivíduos, sendo a população exposta representada por onze anestesiológicos, todos atuantes há mais de cinco anos nos hospitais de São José do Rio Preto. O grupo controle foi composto por nove indivíduos da população geral, pareados por sexo e idade aos profissionais estudados.

Foi considerada, para ambas as amostras, a exposição desses indivíduos a agentes físicos, a outros agentes químicos, como por exemplo, o consumo de álcool e cigarros, ao aparecimento de doenças viróticas ou bacterianas e outros fatores ocorridos até seis meses antes da colheita de sangue. Essas informações foram obtidas e registradas por meio de um amplo questionário aplicado durante entrevista antes da colheita do sangue. As amostras estudadas foram compostas de indivíduos não tabagistas e/ou etilistas, com exceção de dois indivíduos expostos, considerados fumantes leves. Com relação a essa mesma amostra, todos os anestesiológicos relataram em seus questionários exposição esporádica à radiação, decorrente da necessidade do uso de raios-X em algumas cirurgias. De um modo geral, a população de indivíduos controles apresentou baixa taxa de aberrações cromossômicas, com exceção dos indivíduos 05, 06 e 08. Estes indivíduos representaram 70% do total de aberrações cromossômicas encontradas, constituindo o grande núcleo de aberrações cromossômicas. Diante dos resultados encontrados, os indivíduos foram recrutados pela segunda vez, objetivando-se buscar explicação plausível para a alta taxa de aberrações cromossômicas encontradas. Nessa oportunidade, constatou-se que tais

indivíduos haviam se exposto, por longos períodos de tempo, a solventes e outros compostos químicos, com ação genotóxicas conhecida.

Os dados referentes à caracterização das amostras estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Descrição das amostras de indivíduos expostos aos gases tóxicos durante a Segunda Guerra Mundial, no Brasil, e o tempo de exposição.

Amostra	Idade	Sexo	Fumante	Tempo de exposição
E-01	33	M	Não	8 anos
E-02	34	M	Não	10 anos
E-03	34	M	Não	11 anos
E-04	39	M	Não	7 anos
E-05	44	M	Não	20 anos
E-06	46	M	Não	20 anos
E-07	54	M	Não	34 anos
E-08	37	F	Deve	5 anos
E-09	32	F	Não	6 anos
E-10	37	F	Não	15 anos
E-11	41	F	Não	16 anos

Tabela 1 - Descrição da amostra de indivíduos expostos aos gases anestésicos, indicando a idade, sexo, hábito tabagista e tempo de exposição aos gases anestésicos

Amostras	Idade	Sexo	Fumante	Tempo de exposição
E 01	33	M	Não	8 anos
E 02	34	M	Não	10 anos
E 03	36	M	Não	11 anos
E 04	39	M	Não	7 anos
E 05	44	M	Não	20 anos
E 06	46	M	Leve	20 anos
E 07	59	M	Não	34 anos
E 08	31	F	Leve	5 anos
E 09	32	F	Não	6 anos
E 10	40	F	Não	15 anos
E 11	41	F	Não	16 anos

Tabela 2 - Descrição da amostra de indivíduos controles, indicando a idade, sexo, hábito tabagista, a profissão e o tempo de exercício da mesma

Amostras	Idade	Sexo	Fumante	Profissão	Tempo de exercício
C 01	31	M	Não	professor	5 anos
C 02	43	M	Não	psicólogo	16 anos
C 03	45	M	Não	secretário	20 anos
C 04	46	M	Não	prof. univers.	18 anos
C 05	51	M	Não	prof. univers.	21 anos
C 06	62	M	Não	comerciário	30 anos
C 07	29	F	Não	estudante	10 anos
C 08	37	F	Não	manicure	10 anos
C 09	40	F	Não	prof. univers.	13 anos

2 . Metodologia citogenética

Para a execução do estudo foram realizadas culturas temporárias de linfócitos objetivando-se a obtenção de metáfases necessárias para a análise de aberrações cromossômicas e de trocas entre cromátides irmãs.

De cada indivíduo foram colhidos 20 ml de sangue venoso periférico com seringa descartável e heparinizada (Liquemine Roche, 500 U/M) sendo, em seguida, deixados em repouso para a sedimentação das hemácias, cultivados em meio completo RPMI 1640 (SIGMA), suplementado com soro fetal bovino (15%) e L-glutamina (1,5%), penicilina G potássica (100 UI/ml), quemicetina (5 µg/ml). O estímulo mitogênico foi induzido pela fito-hemaglutinina (PHA) (Gibco).

Em 10 ml de meio de cultura completo foi adicionado 1,0 ml de soro autólogo e 1,0 ml de sangue total, em seguida, divididos em 2 alíquotas, com 6,0 ml cada uma, em tubo de centrifuga rosqueados e descartáveis. Após a semeadura, as culturas foram transferidas para estufa bacteriológica onde permaneceram a 37°C por 50 horas para a análise de aberrações cromossômicas (AC) e índice mitótico (IM) e 72 horas para a análise de troca entre cromátides irmãs (TCIs) e índice de proliferação celular (IPC). Após 24 horas, foi adicionado em todos os tubos 50 µl de 5-Bromodesoxiuridina (5-BrdU), um análogo da timidina, possibilitando a identificação dos ciclos celulares, pela incorporação desse análogo de base do DNA sintetizado *in vitro*. A interrupção da divisão celular ocorreu aproximadamente 1 hora e meia antes da colheita, quando foi adicionado em cada frasco, 0,1 ml de colcemid (Gibco). A seguir, foi realizada a hipotonização com KCl a 0,075 M, seguida da fixação do material com 5 trocas sucessivas de metanol:ácido acético (3:1) gelado. A suspensão celular



obtida foi gotejada em lâminas previamente limpas e geladas, que minutos antes foram mergulhadas rapidamente em ácido acético 60% a fim de se verificar sua adequação para o recebimento da cultura. Após o gotejamento, as lâminas foram levadas para a placa aquecedora à 45°C onde permaneceram por 5 minutos. As lâminas foram então, armazenadas por 2 ou 3 dias para posterior coloração.

Para a coloração diferencial das cromátides irmãs, seguiu-se à técnica de KORENBERG & FREEDLENDER (1974) com modificações, segundo EL-ZEIN *et al.* (1995), em culturas colhidas tanto com 50 horas, para a análise de AC em células no primeiro ciclo de divisão, como nas culturas de 72 horas. As lâminas, foram mergulhadas em uma solução aquosa de Hoechst 33258-Sigma (LATT, 1973) por 30 minutos, e submetidas à luz ultravioleta (Philips UV, 15 W) a uma distância de aproximadamente 5cm por um tempo de 30 minutos com tampão fosfato (NaH_2PO_4) acrescido de ácido cítrico, sobre uma placa aquecedora, mantida a uma temperatura de 49 a 53°C; após a exposição, as lâminas foram lavadas em água deionizada. Após secagem ao ar livre, foram coradas com solução aquosa de Giemsa 10% por dez minutos e lavadas com água deionizada.

3 . Análise Citogenética

As lâminas foram codificadas para a realização da análise em teste cego. De cada indivíduo foram analisadas, em média, 300 metáfases em primeira divisão para estimar-se as frequências de aberrações cromossômicas (AC) enquanto que para a análise de troca entre cromátides irmãs (TCIs) foram analisadas, em média, 30 metáfases em segunda divisão.

Para a análise de aberrações cromossômicas, foram escolhidas metáfases de melhor qualidade, nas quais os grupos cromossômicos

pudessem ser identificados com segurança. Computou-se as quebras cromossômicas e cromatídicas, assim como os rearranjos estruturais passíveis de detecção sob a referida técnica. Tais eventos anômalos foram classificados conforme os critérios descritos no Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (ISCN), 1995. Considerou-se quebra, a situação na qual o segmento cromossômico encontrava-se separado do restante do cromossomo por uma distância superior à largura da própria cromátide. Os eventos foram considerados cromossômicos (chr) quando afetavam ambas as cromátides e cromatídicos (cht) quando apenas uma das cromátides era afetada. Considerou-se adição (+) situações nas quais o cromossomo apresentava tamanho diferente do esperado, resultado de quebra com subsequente junção dos fragmentos. Foram considerados ainda, fragmentos com ausência de centrômeros (ace) e cromossomos resultantes de duas quebras em diferentes cromossomos, seguidas de religação inversa dos fragmentos, denominados dicêntricos (dic). Os cromossomos em anel (r) resultam de quebra dos telômeros e posterior ligação; figuras de quatro braços cromossômicos resultantes de rearranjo do material genético, denominadas de quadrirradiais (qr) também foram encontradas.

Também foram efetuados os parâmetros de índices mitótico (IM) com o intuito de detectar-se possíveis alterações induzidas pelos anestésicos na duração do ciclo celular. Foram computadas, em cada indivíduo, a proporção de células em divisão em um total de 2000 linfoblastos.

Para a análise de troca entre cromátides irmãs (TCIs), a qualidade das metáfases e a segurança na identificação dos grupos também foi considerada. As TCIs foram contadas para cada cromossomo da célula e sua frequência expressada por grupo cromossômico ou célula diplóide. Computa-se uma troca quando a cromátide apresenta região fortemente



corada seguida por região fracamente corada, situação que se inverte na cromátide irmã. O índice de proliferação celular (IPC) foi determinado na tentativa de se detectar alterações na duração do ciclo celular induzidas pelos anestésicos. Foram registradas as células em 1º (M1), 2º (M2) e 3º (M3) estádios do ciclo celular em um total de 100 células, segundo a fórmula proposta por Lamberti *et al* (1983) onde $IPC = \frac{1(M1) + 2(M2) + 3(M3)}{100}$

$$100$$

A análise citogenética foi realizada em microscópio Carl Zeiss, modelo Jenaual. Diversos eventos foram fotografados para documentação ou maiores esclarecimentos em microscópio Axioskop Zeiss.

4 . Análise Estatística

Para ambos os parâmetros analisados, primeiramente realizou-se a análise estatística descritiva, determinando-se a média, mediana, desvio padrão e quartis. As frequências consideradas próximas da distribuição normal foram analisadas através de testes paramétricos, como o teste de análise de variância, utilizado para identificar diferenças entre os valores de índices mitóticos e o teste t-Student para os valores de índices de proliferação celular. Para pesquisar a existência de relação entre duas características procedeu-se à análise de regressão linear. Os testes não paramétricos também foram utilizados, como o teste de Mann-Whitney, na comparação do parâmetro de metáfases anômalas e de aberrações cromossômicas entre as duas amostras e o teste de qui-quadrado para identificar diferenças entre o valor de trocas entre cromátides irmãs obtidas e esperadas, relacionadas ao tamanho cromossômico.

A assessoria estatística foi prestada pelo Prof. Dr. Fernando Ferrari, professor do Departamento de Ciência de Computação e Estatística



da Universidade Estadual Paulista, Ibilce - UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto.

IV . Resultados

1 - Aberrações cromossômicas

Para a análise de aberrações cromossômicas (AC) observou-se em média, 253 metáfases por indivíduo na amostra exposta aos gases anestésicos e 388 para a amostra controle. Nessas células, foram pesquisadas quaisquer tipos de alterações cromossômicas, passíveis de detecção sob a coloração empregada.

Na Tabela 3 estão apresentados os dados referentes ao total de metáfases analisadas em cada indivíduo, as frequências absoluta e porcentagem de metáfases anômalas, a frequência absoluta de aberrações cromossômicas e o índice mitótico em 11 médicos anesthesiologistas e 9 controles. Pode-se observar que a frequência absoluta de metáfases anômalas (MA) foi de 71 na amostra exposta aos gases anestésicos e 64 nos controles. O número total de aberrações cromossômicas (AC) encontradas nesses indivíduos foi de 98 para a amostra exposta e 75 na amostra controle. Assim, pode-se notar que muitas metáfases apresentaram mais de uma anomalia, como pode ser verificado pelo valor médio de AC/MA, que foi de 1,4 para a amostra exposta e 1,2 nos controles. Quanto ao índice mitótico, pode-se observar que os valores encontrados foram semelhantes tanto entre os indivíduos da amostra exposta como da amostra controle. A análise de variância indicou não haver diferenças significativas entre as duas amostras.

Através da análise estatística descritiva, apresentada na Tabela 4, denota-se que a média de metáfases anômalas apresenta uma tendência de aumento, embora não tenha sido possível a realização de teste estatístico comparando as duas amostras. Os valores que demonstram a diferença entre



esses grupos dão um indicativo de que os indivíduos expostos aos gases anestésicos apresentam freqüências aumentadas para as alterações estudadas. Na Figura 3, pode-se visualizar melhor essa situação por meio de um gráfico tipo "boxplot".

Um gráfico tipo "boxplot" apresenta os dados de uma amostra organizados em ordem crescente, divididos em quatro quartis denominados respectivamente, Q1, Q2, Q3 e Q4, cujos limites superiores demarcam 25%, 50%, 75% e 100% da referida amostra.

A análise estatística descritiva também foi aplicada para o parâmetro de aberrações cromossômicas (Tabela 5) observando-se que a média também foi maior nos indivíduos expostos aos gases anestésicos. Da mesma forma, um gráfico do tipo "boxplot" (Figura 4) mostra as diferenças encontradas entre os dois grupos.

O teste de Mann-Whitney foi realizado tanto com os valores de metáfases anômalas como de aberrações cromossômicas. As diferenças encontradas não foram estatisticamente significantes.

Quanto aos tipos de aberrações cromossômicas encontradas, a Tabela 6 apresenta suas diversas categorias com as respectivas freqüências de ocorrência. As quebras cromossômicas foram os eventos anômalos mais freqüentes no grupo exposto, seguidos de quebras cromatídicas. Na amostra controle, entretanto, as quebras cromatídicas foram mais freqüentemente encontradas. As falhas cromossômicas e cromatídicas foram observadas, porém não computadas. A freqüência de outros eventos, como adição de material genético no braço longo dos cromossomos B e D, fragmentos acêntricos, cromossomos dicêntricos, anéis e figuras quadrirradais foi na maioria dos tipos, maior na amostra exposta do que na controle, totalizando mais que o dobro do valor quando somadas. Essas freqüências podem ser visualizadas através da Figura 5, que mostra os diferentes tipos de aberrações

cromossômicas encontradas na amostra de indivíduos expostos aos gases anestésicos e controles.

Na figura 6 observa-se que, na maioria dos grupos cromossômicos, a ocorrência de quebras (cromossômicas e cromatídicas) foi maior na amostra exposta aos gases anestésicos, com exceção do grupo B, no qual foi encontrada uma frequência maior nos indivíduos controles e grupos D e F, com a mesma frequência para ambas amostras.

As figuras 7 e 8 representam as frequências relativas dos eventos anômalos encontrados, respectivamente, nos indivíduos expostos aos gases anestésicos e controles. Pode-se notar que nos indivíduos expostos, a maior porcentagem encontrada foi de quebras cromossômicas, seguidas de outros eventos anômalos e quebras cromatídicas, com valores muito próximos; já na amostra controle a maior porcentagem se deve as quebras cromatídicas, seguidas de quebras cromossômicas.

Com relação ao estudo das metáfases anômalas, a análise de regressão não se ajusta ao modelo linear. Contudo, percebe-se uma tendência desse parâmetro relacionada com o tempo de exposição aos gases anestésicos, como pode ser visto na Figura 9. O mesmo pode ser dito quando se faz a relação entre o parâmetro "aberrações cromossômicas" com o tempo de exposição dos indivíduos expostos (Figura 10).

As figuras 11 e 12 mostram, respectivamente, uma metáfase normal e metáfases parciais de indivíduos expostos com diferentes eventos anômalos.



Tabela 3 - Total de metáfases analisadas para cada indivíduo, frequências absoluta e percentuais de metáfases anômalas (MA), frequência absoluta de aberrações cromossômicas (AC), valor médio de aberrações cromossômicas por metáfases anômalas e índice mitótico (IM) em amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) e controles (C)

Amostras	Total de metáfases analisadas	Frequências			valor médio de AC/MA	IM(‰)
		metáfases anômalas		AC		
		nº	%			
E 01	163	5	3,06	6	1,2	18
E 02	259	12	4,63	25	2,08	9
E 03	85	1	1,17	1	1	18,5
E 04	505	15	2,97	15	1	29
E 05	220	6	2,73	8	1,3	31,5
E 06	291	13	4,46	22	1,7	30,5
E 07	500	9	1,8	11	1,2	24,5
E 08	176	1	0,56	1	1	40,5
E 09	37	0	0	0	0	6,5
E 10	44	1	2,27	1	1	37
E 11	500	8	1,6	8	1	45
Total	2780	71	2,55	98	1,4	26,4
C 01	500	3	0,6	4	1,3	22,5
C 02	317	4	1,26	4	1	32,5
C 03	252	4	1,58	5	1,2	23,5
C 04	120	0	0	0	0	22
C 05	466	21	4,51	24	1,1	11,5
C 06	500	13	2,6	15	1,1	26
C 07	500	6	1,2	6	1	26,5
C 08	409	9	2,20	13	1,4	15,5
C 09	435	4	0,92	4	1	31
Total	3499	64	1,83	75	1,2	23,4

Tabela 4 - Descrição estatística das amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) e controles (C) referentes ao número total de metáfases anômalas

Amostra	N	$\bar{X}$	Md	DP	Min	Max	Q1	Q3
E	71	0,023	0,023	0,015	0,0	0,046	0,012	0,031
C	64	0,016	0,013	0,013	0,0	0,045	0,007	0,024

N - nº de metáfases anômalas
 $\bar{X}$ - média
Md - mediana

DP - desvio padrão
Mín - nº mínimo
Máx. - nº máximo

Q1 - 1º quartil
Q3 - 3º quartil

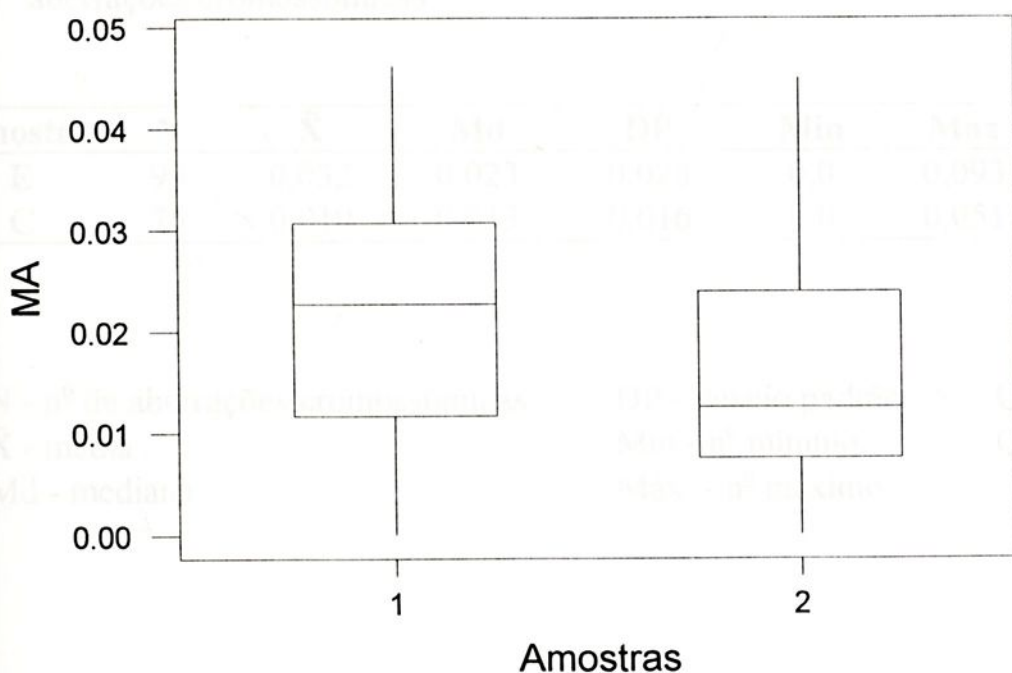


Figura 3 - "Boxplot" das amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos (1) e controles (2), obtidos pelo agrupamento de suas freqüências médias de metáfases anômalas, apresentando quartis e medianas das amostras.

Tabela 5 - Descrição estatística das amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) e controles (C) referentes ao número total de aberrações cromossômicas

Amostra	N	$\bar{X}$	Md	DP	Min	Max	Q1	Q3
E	98	0,032	0,023	0,028	0,0	0,093	0,012	0,037
C	75	0,019	0,013	0,016	0,0	0,051	0,008	0,031

N - nº de aberrações cromossômicas

$\bar{X}$ - média

Md - mediana

DP - desvio padrão

Mín - nº mínimo

Máx. - nº máximo

Q1 - 1º quartil

Q3 - 3º quartil

Tabela 6 - Distribuição das diferentes tipos de Aberrações Cromossômicas (AC) em metafases de linfócitos dos indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) e controles (C).

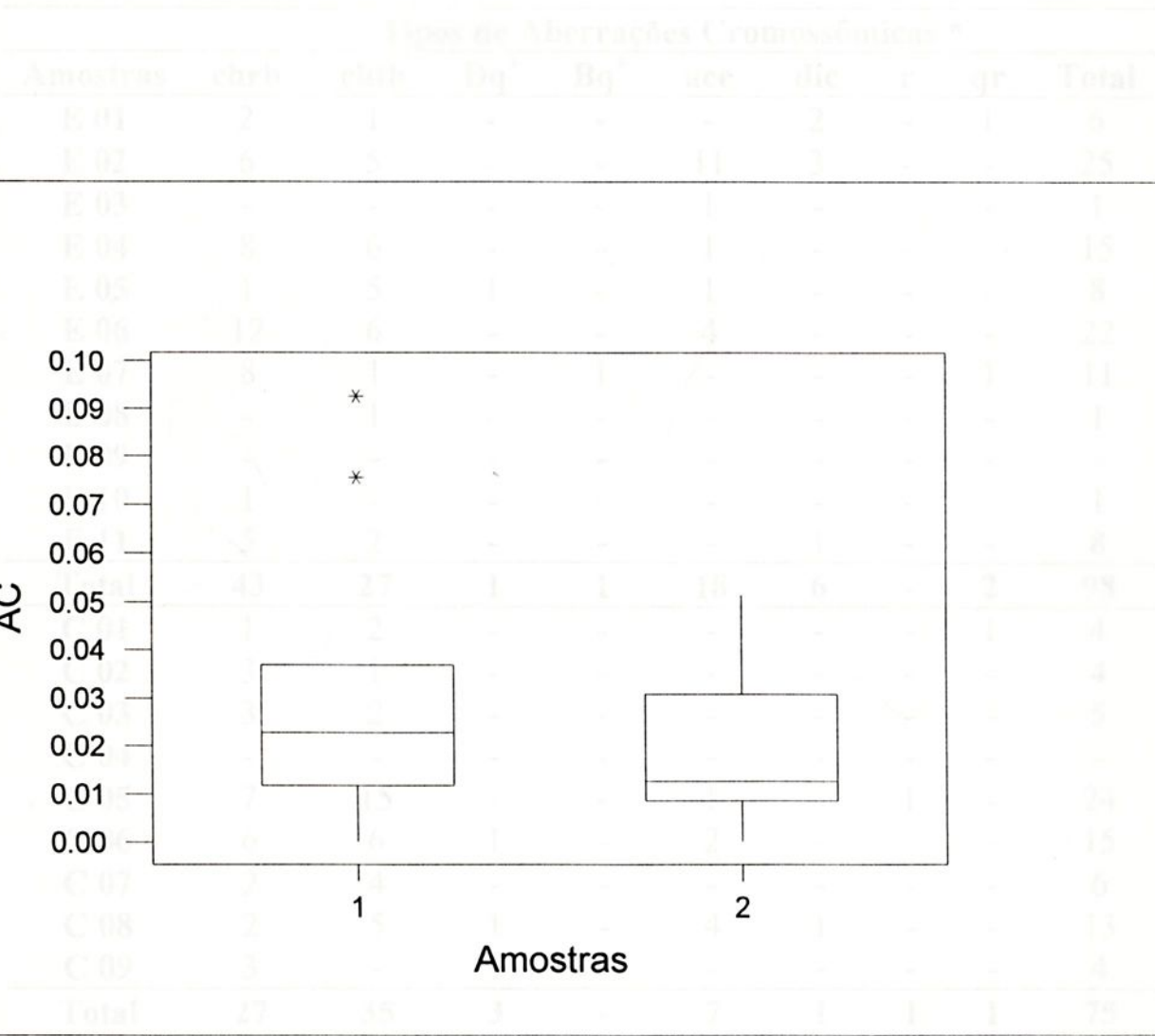


Tabela 6 - Distribuição dos diferentes tipos de Aberrações Cromossômicas (AC) em metáfases de linfócitos dos indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) e controles (C)

Amostras	Tipos de Aberrações Cromossômicas *								Total
	chrb	chtb	Dq ⁺	Bq ⁺	ace	dic	r	qr	
E 01	2	1	-	-	-	2	-	1	6
E 02	6	5	-	-	11	3	-	-	25
E 03	-	-	-	-	1	-	-	-	1
E 04	8	6	-	-	1	-	-	-	15
E 05	1	5	1	-	1	-	-	-	8
E 06	12	6	-	-	4	-	-	-	22
E 07	8	1	-	1	-	-	-	1	11
E 08	-	1	-	-	-	-	-	-	1
E 09	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E 10	1	-	-	-	-	-	-	-	1
E 11	5	2	-	-	-	1	-	-	8
Total	43	27	1	1	18	6	-	2	98
C 01	1	2	-	-	-	-	-	1	4
C 02	3	1	-	-	-	-	-	-	4
C 03	3	2	-	-	-	-	-	-	5
C 04	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C 05	7	15	-	-	1	-	1	-	24
C 06	6	6	1	-	2	-	-	-	15
C 07	2	4	-	-	-	-	-	-	6
C 08	2	5	1	-	4	1	-	-	13
C 09	3	-	1	-	-	-	-	-	4
Total	27	35	3	-	7	1	1	1	75

- * chrb: quebra cromossômica
 chtb: quebra cromatídica
 Dq⁺: cromossomo D com o braço longo aumentado
 Bq⁺: cromossomo B com o braço longo aumentado
 ace: fragmento acêntrico
 dic: cromossomo com dois centrômeros
 r: cromossomo em anel
 qr: figura quadrirradial

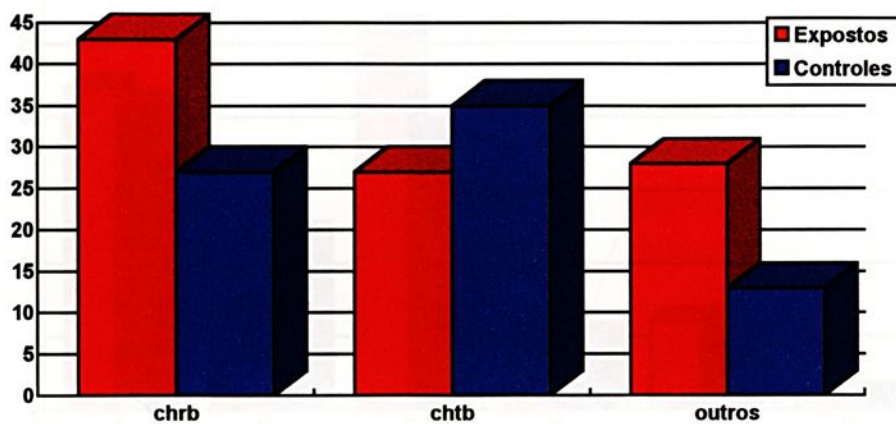


Figura 5- Caracterização gráfica das frequências absolutas dos diferentes tipos de aberrações cromossômicas (AC) em metáfases dos indivíduos expostos aos gases anestésicos e controles.

chrb - quebra cromossômica

chtb - quebra cromatídica

outros - outros eventos anômalos encontrados

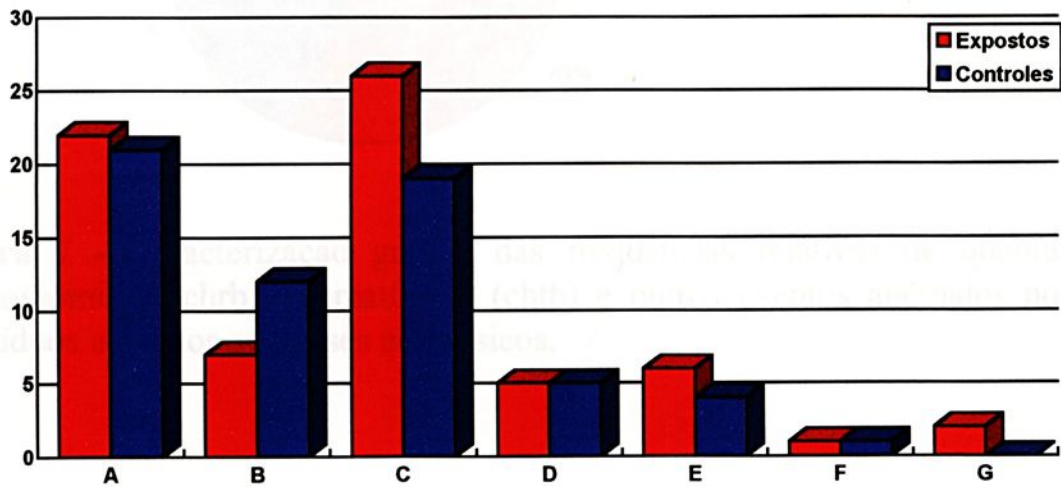


Figura 6 - Caracterização gráfica das frequências absolutas das distribuições de eventos estruturais (quebras cromossômicas e cromatídicas) nos grupos cromossômicos (A a G) de indivíduos expostos aos gases anestésicos e controles.

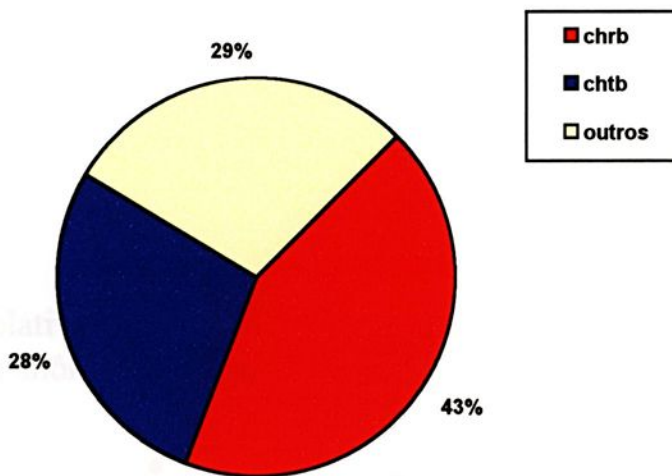


Figura 7 - Caracterização gráfica das frequências relativas de quebras cromossômicas (chrb), cromatídicas (chtb) e outros eventos anômalos nos indivíduos expostos aos gases anestésicos.

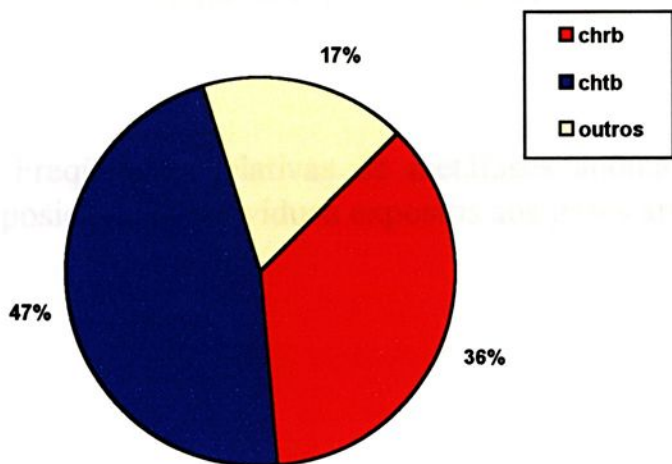


Figura 8 - Caracterização gráfica das frequências relativas de quebras cromossômicas (chrb), cromatídicas (chtb) e outros eventos anômalos nos indivíduos controles.

freqüência relativa
de metáfases anômalas

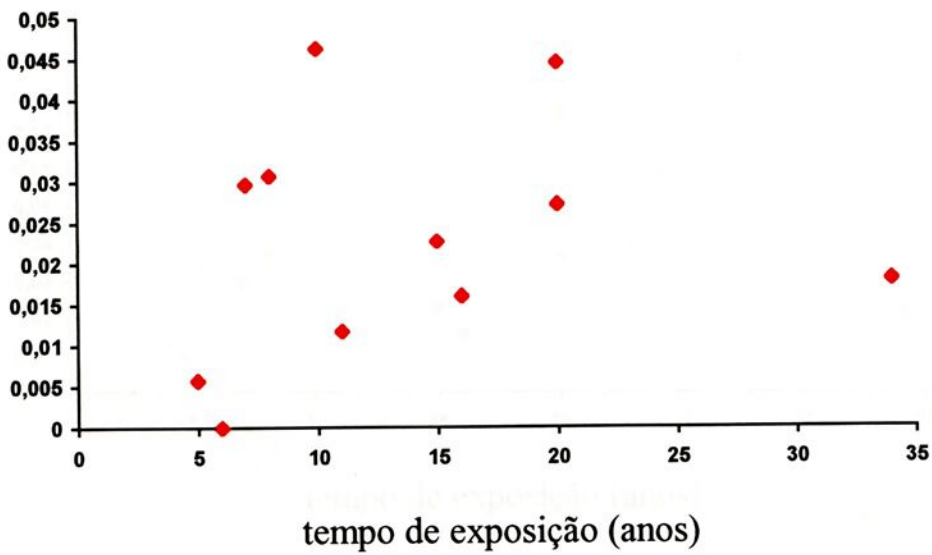


Figura 9 - Freqüências relativas de metáfases anômalas relacionadas ao tempo de exposição dos indivíduos expostos aos gases anestésicos.

freqüência relativa
de aberrações cromossômicas

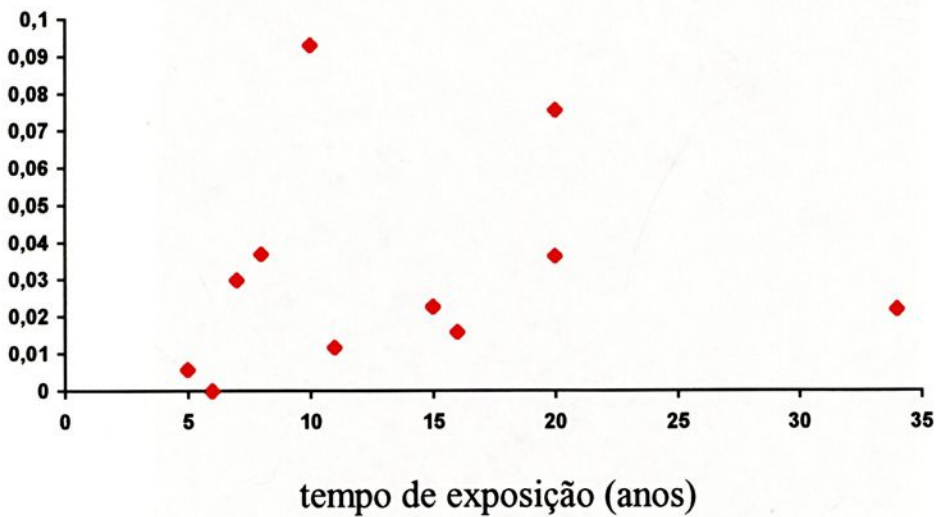


Figura 10 - Freqüências relativas de aberrações cromossômicas relacionadas ao tempo de exposição dos indivíduos expostos aos gases anestésicos.

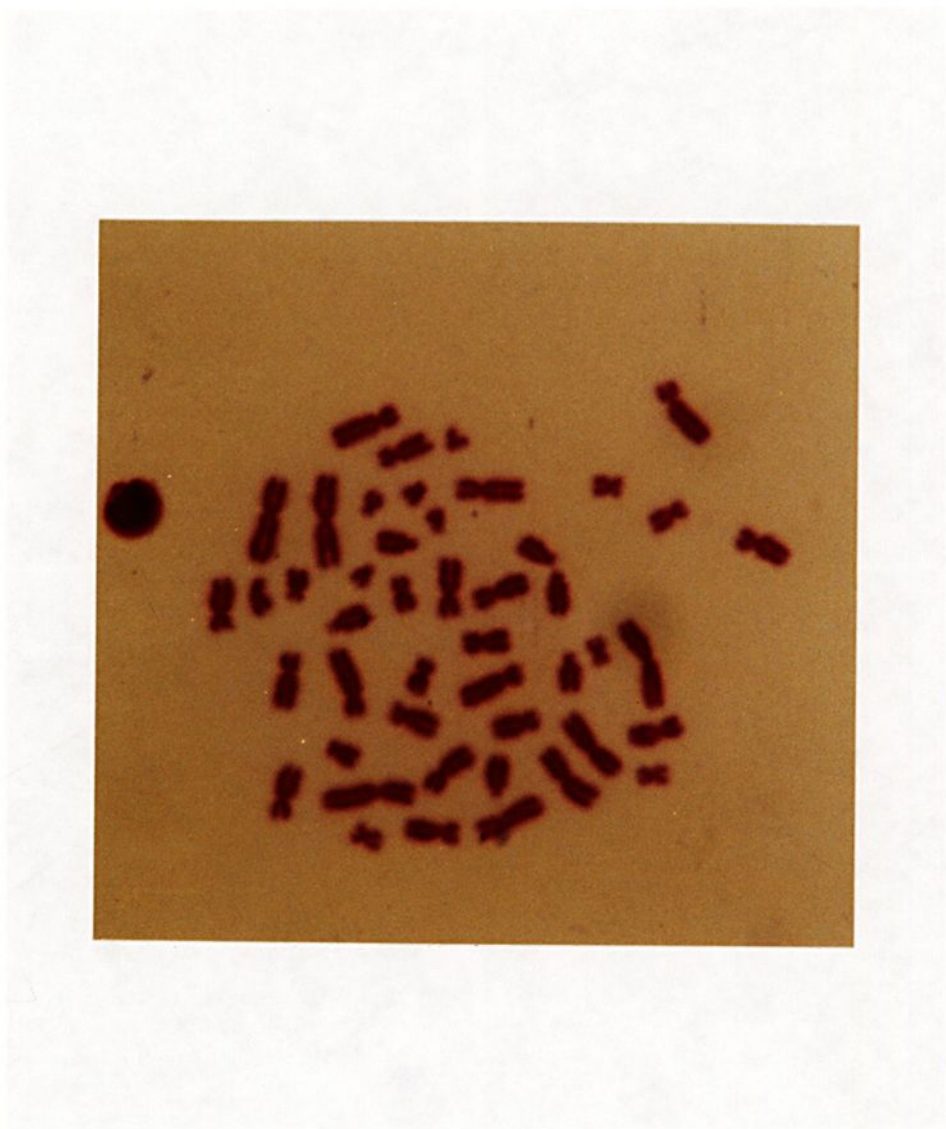


Figura 11 - Fotomicrografia de uma metáfase normal (46, XY).

Figura 12 - Fotomicrografias de metáfases parciais de indivíduos humanos mostrando diversos eventos anormais como dicentricos (a e b), anel (c) e Dq (d), e figuras quadríplicas (e e f).

2 - Troca entre cromátidos irmãos

Na Tabela 7, pode-se observar os dados referentes às

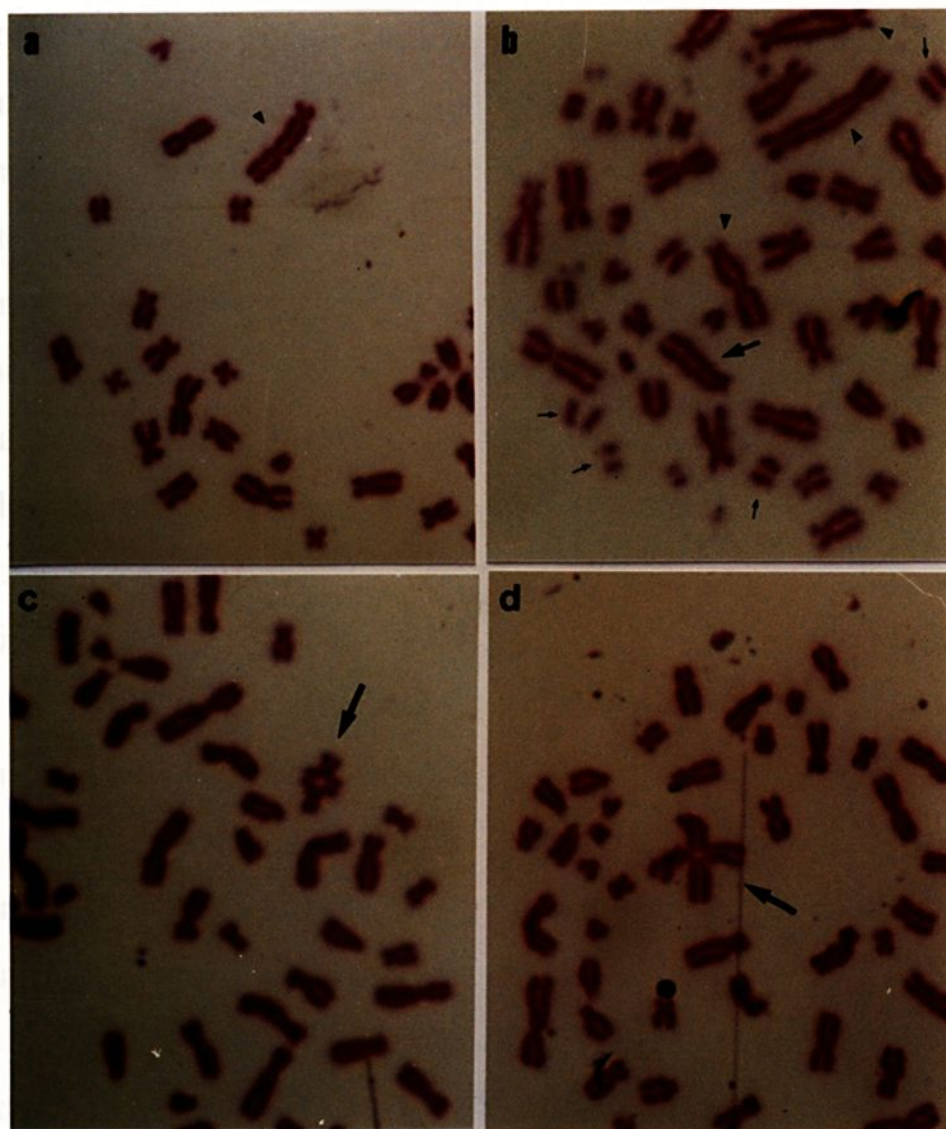


Figura 12 - Fotomicrografias de metáfases parciais de indivíduos expostos mostrando diversos eventos anômalos como dicêntricos (a e b), acêntricos e Dq^+ (b), e figuras quadrirradaiais (c e d).

2 - Trocas entre cromátides irmãs

Na Tabela 7, pode-se observar os dados referentes às frequências absolutas de trocas entre cromátides-irmãs (TCIs) das amostras exposta e controle. A análise procedeu-se com um indivíduo a menos na amostra controle, pois sua cultura não apresentou crescimento celular satisfatório. Apesar do número de células analisadas ser variável, a média para as duas amostras foi de 30 metáfases. A média de TCIs por célula mostrou-se próxima para as duas amostras, isto é, de 9,71 para a amostra exposta e de 7,70 para a amostra controle. Com relação ao limite de TCIs por célula, encontrou-se 1 troca como valor mínimo para ambas as amostras e 25 e 22, respectivamente, como número máximo de trocas para as amostras exposta e controle.

Pela análise estatística descritiva (Tabela 8), pode-se notar que não houve diferença muito acentuada entre os dois grupos. Tais resultados estão representados graficamente na Figura 13. As Figuras 14 e 15 apresentam, sob a forma de boxplots, os dados da estatística descritiva das duas amostras, exposta e controle, respectivamente.

Na Figura 16 está apresentado o gráfico relacionando o número de trocas entre cromátides irmãs e a idade dos indivíduos nas duas amostras. Na amostra exposta essa relação não é muito nítida, enquanto que na amostra controle essa relação pode ser vista facilmente. Parece haver uma relação entre o aumento do número de TCIs com o tempo de exposição a anestésicos, considerando-se de 0 a 17 anos de trabalho. Os indivíduos com maior tempo de trabalho parecem não corresponder a essa afirmação, que poderia ser explicada pelo tempo de exposição diária e pelos anestésicos empregados anteriormente (Figura 17).



As frequências absolutas de TCIs por grupos cromossômicos de ambas amostras, estão apresentadas na Tabela 9. Buscando-se verificar se a distribuição das TCIs entre os diversos grupos cromossômicos ocorreu de acordo com os valores esperados, comparou-se os resultados obtidos àqueles esperados de acordo com o tamanho do lote cromossômico, através dos teste de qui-quadrado. O resultado da aplicação do teste revelou que há diferenças altamente significativas na proporção esperada com aquela obtida de TCIs entre os grupos cromossômicos em quaisquer da amostras estudadas, pois as probabilidades das amostras não serem diferentes (p) foram muito inferiores a 0,001. As Figuras 18 e 19 ilustram as proporções obtidas e esperadas para as amostras exposta e controle do sexo masculino e feminino respectivamente. Pode-se observar que os cromossomos maiores (grupos A, B e C) apresentam mais TCIs que o esperado, enquanto que para os de menor tamanho (grupos F e G) obteve-se um número de TCIs muitas vezes inferior ao esperado, para os dois sexos. Esses fatos demonstram que a distribuição de TCIs por grupo cromossômico não se baseia exclusivamente no tamanho do cromossomo.

A ilustração micrográfica de um indivíduo exposto, apresentando várias trocas entre cromátides irmãs consta da Figura 20.

Na Tabela 10 estão apresentados os dados referentes aos valores percentuais de células que estão no primeiro, segundo e terceiro ciclo de divisão celular e o índice de proliferação celular nas amostras exposta e controle. O teste t-Student realizado indicou não haver diferença significativa entre os dois grupos estudados. As figuras 21 e 22 ilustram as frequências relativas dos diferentes ciclos celulares dos indivíduos expostos aos gases anestésicos e os controles, respectivamente.



Tabela 7 - Frequências absolutas de trocas entre cromátides-irmãs (TCIs) em indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) e controles (C)

Amostras	TCI/célula			Limites das frequências de TCI/células	
	nº total	$\bar{x}$	$\pm s$	Mínimo	Máximo
E 01	270	8,7096	3,3285	3	15
E 02	231	10,0434	4,4361	2	19
E 03	274	5,48	2,4514	1	12
E 04	324	9,2571	3,9208	3	18
E 05	411	7,6111	3,5998	2	17
E 06	332	8,5128	3,9528	2	16
E 07	406	10,15	4,1605	2	21
E 08	338	6,76	3,0274	1	13
E 09	28	14	1,4142	13	15
E 10	159	15,9	4,8177	8	25
E 11	398	10,4776	4,7802	3	23
Total	3171	9,7179	3,0207		
C 02	272	6,6341	3,8971	2	22
C 03	193	8,3913	3,2437	2	14
C 04	36	7,2	2,7748	4	10
C 05	84	7,6363	3,4430	2	12
C 06	478	12,2564	4,0763	5	20
C 07	271	5,42	2,7485	1	11
C 08	290	5,8	2,7847	1	16
C 09	281	8,2647	2,8102	4	14
Total	1905	7,7003	2,1299		

Tabela 8 - Descrição estatística das amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) e controles (C) referentes ao número médio de trocas entre cromátides irmãs

Amostra	N	$\bar{X}$	Md	DP	IC (95%)	Q1	Q3
E	372	9,7179	9,2571	3,0207	7,6887; 11,7471	7,6111	10,4736
C	253	7,7003	7,4181	2,1299	5,9194; 9,4812	6,2170	8,328

N - nº de metáfases analisadas

$\bar{X}$ - média

Md - mediana

DP - desvio padrão

IC - intervalo de confiança

Q1 - 1º quartil

Q3 - 3º quartil

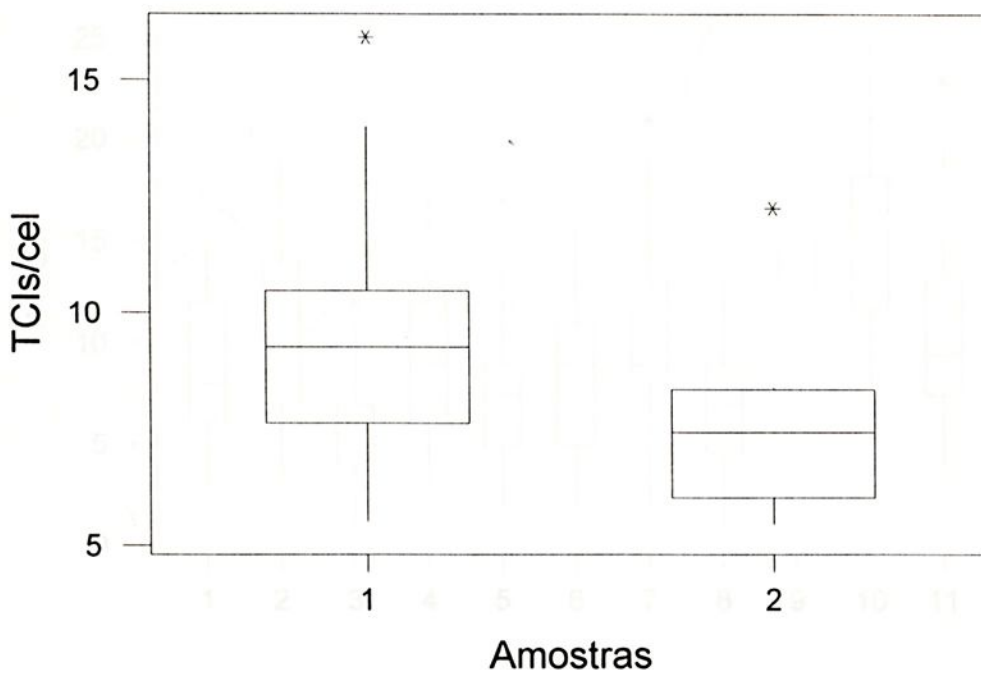


Figura 13 - "Boxplot" das amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos (1) e controles (2), obtidos pelo agrupamento de suas frequências médias de trocas entre cromátides irmãs apresentando quartis e medianas das amostras.

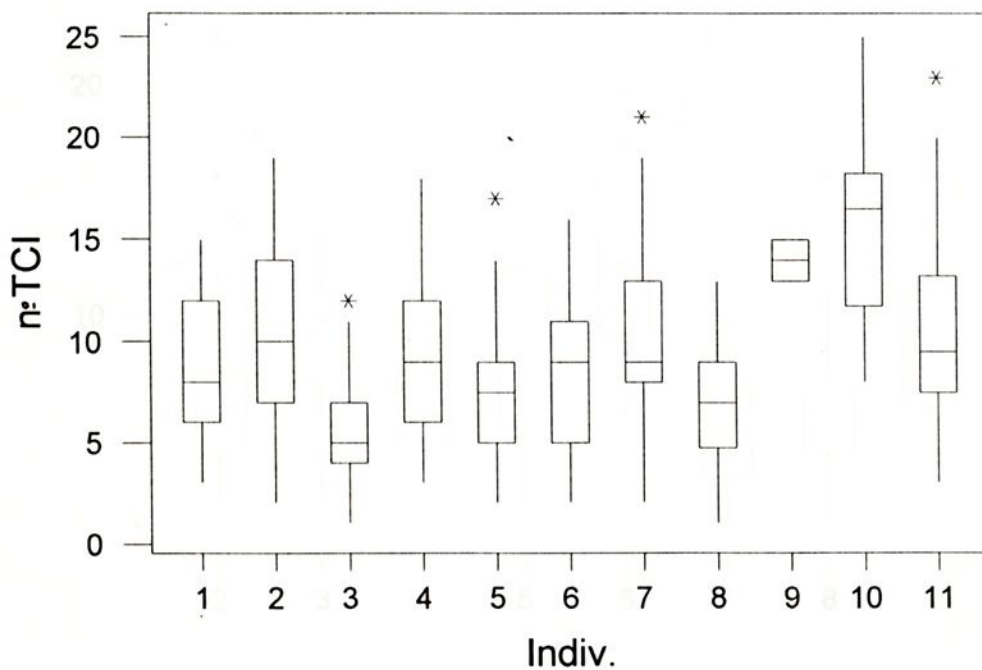


Figura 14 - "Boxplot" das amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos, obtidos pelo agrupamento de suas frequências médias de trocas entre cromátides irmãs apresentando quartis e medianas da amostra.



média de TCI

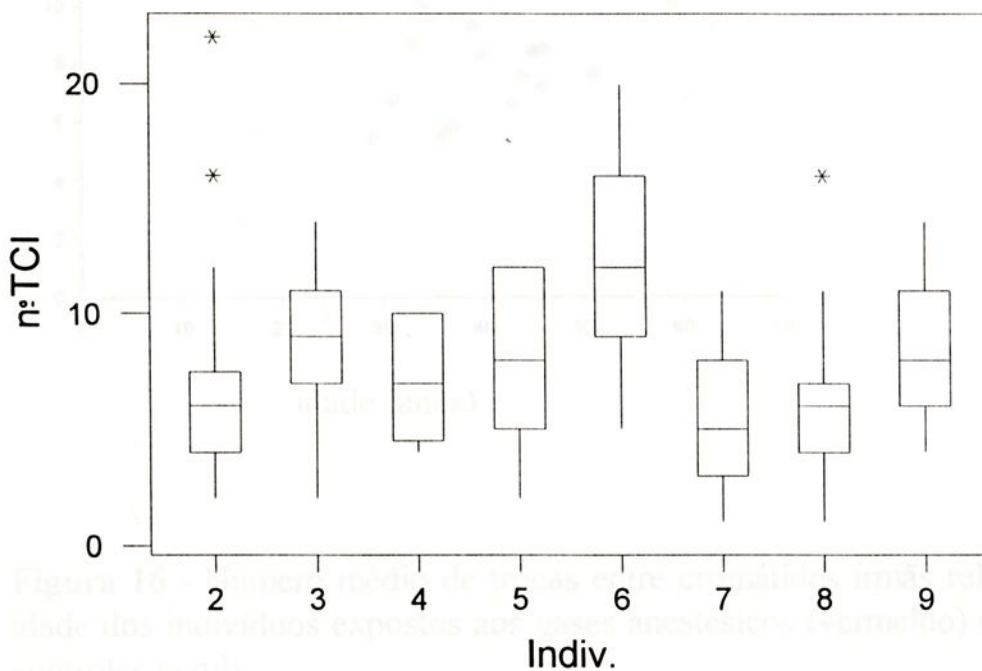


Figura 15 - “Boxplot” das amostras de indivíduos controles, obtidos pelo agrupamento de suas freqüências médias de trocas entre cromátides irmãs apresentando quartis e medianas da amostra.



média de TCIs

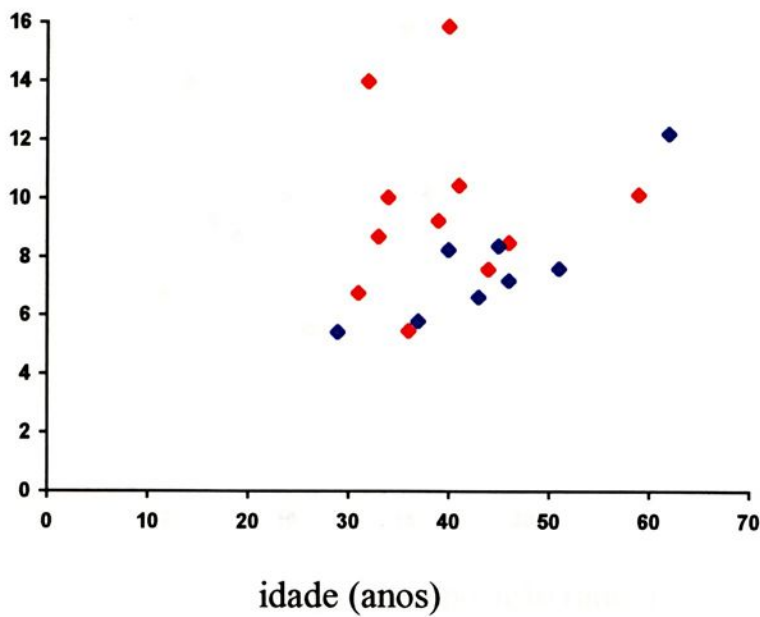


Figura 16 - Número médio de trocas entre cromátides irmãs relacionadas a idade dos indivíduos expostos aos gases anestésicos (vermelho) e indivíduos controles (azul).

média de TCIs

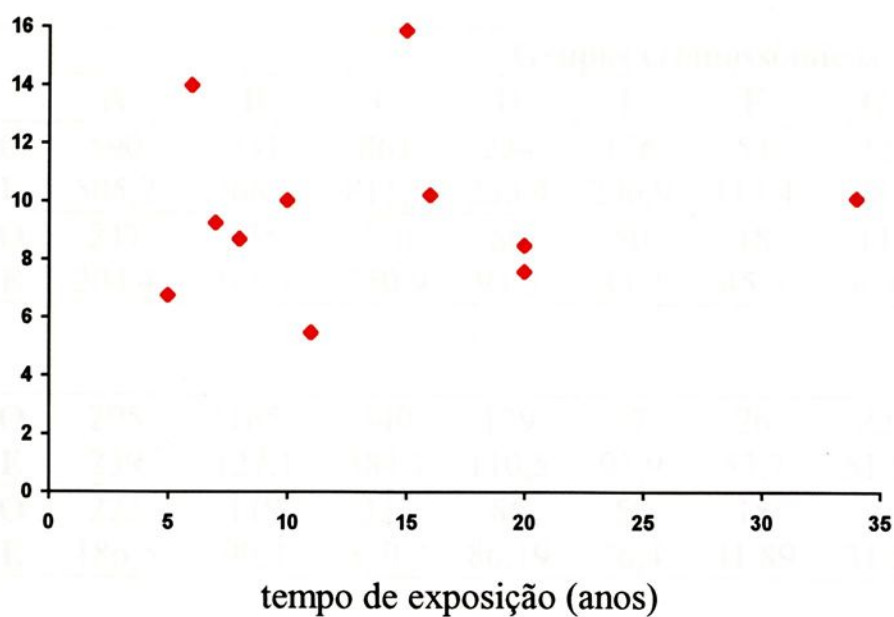


Figura 17 - Número médio de trocas entre cromátides irmãs relacionadas ao tempo de exposição dos indivíduos expostos aos gases anestésicos.

Tabela 9 - Distribuição das frequências absolutas de TCIs por grupo cromossômico nas amostras exposta e controle agrupadas por sexo, e valores esperados com base no tamanho relativo dos cromossomos, segundo Lubs *et al.*(ISCN, 1978)

Amostras		Grupos cromossômicos								
		A	B	C	D	E	F	G	Total	χ^2
EM	O	590	331	861	234	136	54	42	2248	127,69
	E	505,2	268,5	811,5	233,4	206,9	113,4	108,2		
EF	O	247	135	376	86	50	18	11	923	64,38
	E	204,4	108,7	350,9	94,5	83,7	45,9	34,6		
CM	O	295	165	340	139	77	26	22	1064	72,46
	E	239	127,1	384,1	110,5	97,9	53,7	51,5		
CF	O	223	119	334	86	55	18	7	842	50,34
	E	186,5	99,2	320,2	86,19	76,4	41,89	31,5		
Tamanho relativo do lote 2n	M	46,58	24,76	74,82	21,52	19,08	10,46	10,03	207,25	
	F	46,58	24,76	79,94	21,52	19,08	10,46	7,88	210,22	

(GL=6, $p < 0,001$)

EM-expostos masculinos, EF- exposto feminino,

CM-controles masculinos, CF-controle feminino.

O observado, E esperado

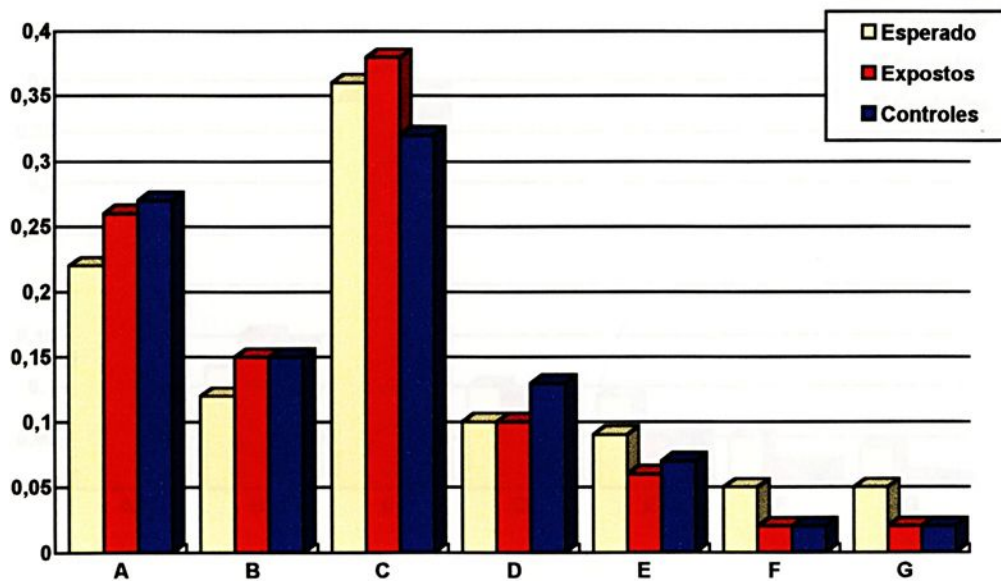


Figura 18 - Distribuição das freqüências relativas de TCI por grupo cromossômico casualmente esperadas, baseadas no tamanho relativo dos cromossomos, comparadas àquelas obtidas nas amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos e controles do sexo masculino.

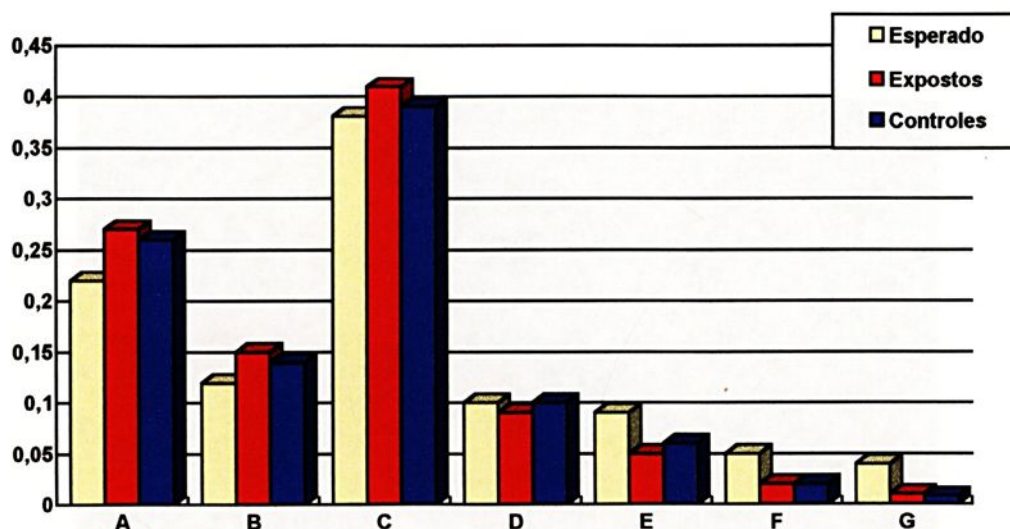


Figura 19 - Distribuição das frequências relativas de TCI por grupo cromossômico casualmente esperadas, baseadas no tamanho relativo dos cromossomos, comparadas àquelas obtidas nas amostras de indivíduos expostos aos gases anestésicos e controles do sexo feminino.

Tabela 10 - Valores dos índices de proliferação celular (IPC) dos indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) controles (C)

Amostras	M1%	M2%	M3%	IPC (%)
E 01				1,73
E 02				1,92
E 03				1,44
E 04				1,99
E 05				1,77
E 06				1,41
E 07				1,88
E 08				1,49
E 09				1,23
E 10				1,30
E 11				2,23
Total				
%				
C 01				1,71
C 02				1,97
C 03				1,87
C 04				1,20
C 05	33	49	18	1,25
C 06	55	41	4	1,49
C 07	58	36	6	1,45
C 08	46	36	18	1,71
Total	376,6	317,5	105,9	

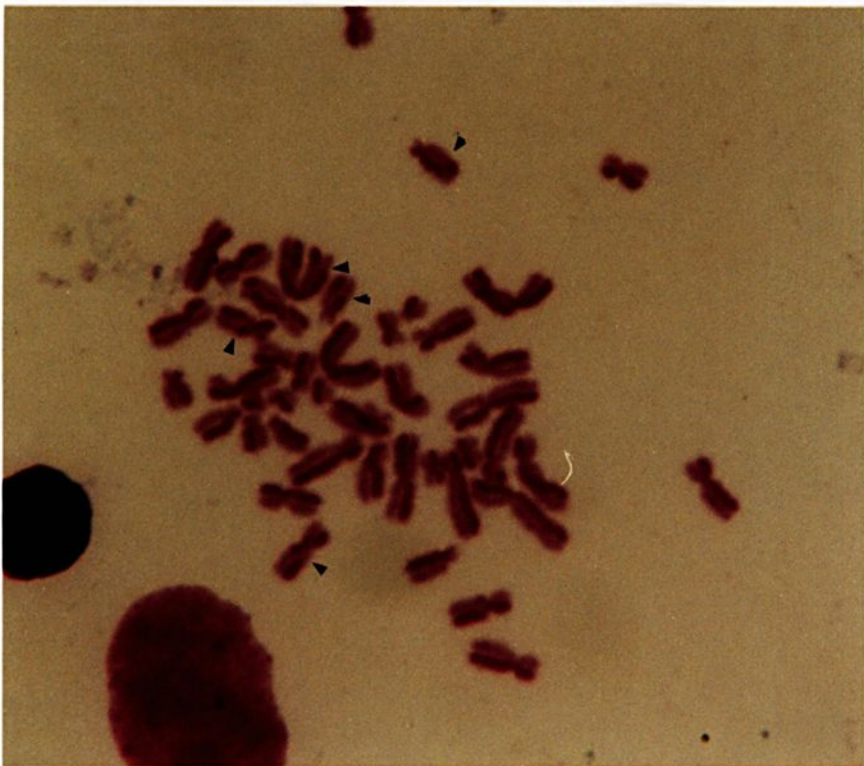


Figura 20 - Fotomicrografia de uma metáfase de indivíduo exposto mostrando várias trocas entre cromátides irmãs.

Tabela 10 - Valores dos índice de proliferação celular (IPC) dos indivíduos expostos aos gases anestésicos (E) controles (C)

Amostras	M1%	M2%	M3%	IPC(%)
E 01	37	53	10	1,73
E 02	26	56	18	1,92
E 03	56	44	0	1,44
E 04	25	51	24	1,99
E 05	35	53	12	1,77
E 06	43	52	5	1,61
E 07	29	54	17	1,88
E 08	52	47	1	1,49
E 09	79	19	2	1,23
E 10	16	38	46	2,30
E 11	12	53	35	2,23
Total	410,06	520,22	169,71	
%	37,28	47,3	15,42	
C 02	50	29	21	1,71
C 03	27	49	24	1,97
C 04	28	57	15	1,87
C 05	80	20	0	1,20
C 06	33	49	18	1,85
C 07	55	41	4	1,49
C 08	58	36	6	1,48
C 09	46	36	18	1,72
Total	376,6	317,5	105,9	
%	47,1	39,7	13,2	

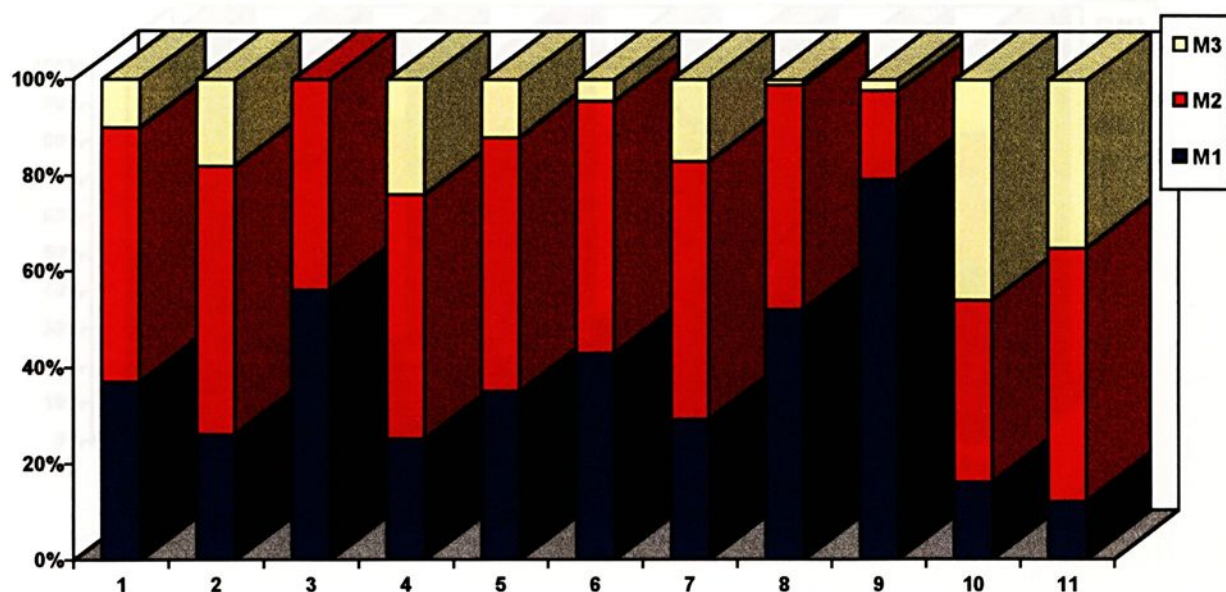


Figura 21 - Frequências relativas dos diferentes ciclos celulares (M1: células em primeira divisão, M2: células em segunda divisão e M3: células em terceira divisão) dos indivíduos expostos aos gases anestésicos.

V. Discussão

1. Ação protetora em unidades

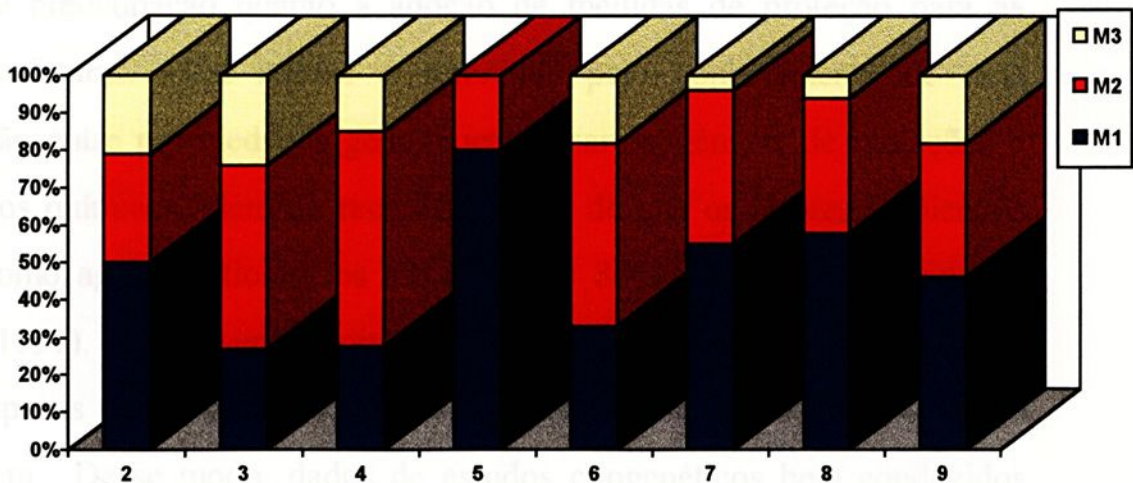


Figura 22 - Frequências relativas dos diferentes ciclos celulares (M1: células em primeira divisão, M2: células em segunda divisão e M3: células em terceira divisão) dos indivíduos da amostra controle.

V . Discussão

1 . Ação genotóxica dos anestésicos

As alterações induzidas no genoma humano têm gerado uma crescente preocupação quanto à adoção de medidas de proteção para as gerações futuras. Tal atitude é reforçada pelo conhecimento de uma associação entre propriedades genotóxicas e carcinogênicas de radiações e compostos químicos, além do reconhecimento de que os fatores ambientais atuam como agentes etiológicos em cerca de 80% dos cânceres humanos (IARC, 1991). Assim sendo, torna-se cada vez mais urgente a utilização de testes capazes de detectar tais agentes, bem como quantificar o DNA lesado no homem. Desse modo, dados de estudos citogenéticos bem conduzidos podem ser usados com confiança para indicar exposição excessiva a agentes nocivos, bem como indicar o risco potencial de desenvolvimento de sérios problemas de saúde na população exposta (AU, 1991; FERRARI, 1991).

Para o estudo da ação de anestésicos sobre o DNA, diferentes sistemas de testes têm sido empregados. Pode-se citar entre esses o ensaio de mutação gênica reversa com *Salmonella typhimurium* com ativação metabólica, que utiliza como organismo teste, diversas linhagens dependentes da histidina. Esse sistema é confirmador da atividade mutagênica e é freqüentemente considerado como padrão com o qual são comparados outros sistemas. Tal teste foi utilizado em diferentes estudos, para analisar a maioria dos anestésicos atuais, bem como os anteriores.

Os testes com animais são também muito empregados. Dentre eles, apenas um revelou resultado positivo causado pela inalação do isoflurano, encontrando-se uma freqüência aumentada de tumores hepáticos



em camundongos Swiss/ICR macho, mas não na fêmea, expostos *in utero* e por um curto período pós-natal. Em um estudo mais completo, no qual foi empregado um esquema de exposição semelhante, não foi possível mostrar uma frequência aumentada de tumores hepáticos ou outros, em camundongos Swiss/ICR expostos tanto ao isoflurano, halotano, enflurano, metoxiflurano ou ao óxido nitroso. O halotano e o enflurano também foram examinados em sua dose máxima tolerada em dois estudos sobre carcinogenicidade, no período de vida de camundongos Swiss/ICR. No primeiro, 161 camundongos foram expostos a 500 ppm de halotano durante 2 horas/dia, tanto *in utero* como durante 78 semanas após o nascimento. No segundo estudo, 250 camundongos recém desmamados foram expostos a 3000 ppm de enflurano, 4 horas/dia durante 78 semanas. Apesar da exposição permanente a doses máximas toleradas, nenhum dos anestésicos mostrou-se carcinogênico.

As ações cicloativa, clastogênica e aneugênica têm sido atribuídas ao halotano em razão, respectivamente, de seus efeitos sobre a duração do ciclo mitótico, prolongando-o em fibroblastos de hamster chinês e efeitos na mitose em células da gema em *Vicia faba*, resultando em quebras e aneuploidias (KRAMERS & BURM, 1979; BADEN & SIMMON, 1980). Outros efeitos sobre o ciclo celular e indução de erros durante a segregação cromossômica foram relatados por BASLER & RÖHRBORN (1981), em células de medula óssea de hamster chinês, não tendo sido detectada ação clastogênica do halotano nesses organismos.

Apesar desses resultados, há que se considerar que a extrapolação de dados obtidos em experimentos que empregam organismos que não o homem é muito discutida, uma vez que as condições de exposição e as vias de metabolização dos compostos químicos são muito diferentes, sem levar em consideração outros fatores relevantes como o modo de vida,



hábito alimentar, estresse, entre outros. O número de animais expostos em qualquer experiência é pequeno quando comparado ao número de seres humanos expostos. Mesmo que os anestésicos tenham baixo potencial para produzir toxicidade a longo prazo, a exposição crônica de uma grande população de indivíduos pode representar um risco de saúde pública considerável (MILLER, 1989).

No presente estudo, tanto as médias de metáfases anômalas como as de aberrações cromossômicas foram mais altas nos indivíduos expostos a gases anestésicos em comparação aos indivíduos controles; entretanto, tal diferença não mostrou ser estatisticamente significativa entre as duas amostras. Tal resultado poderia ser explicado devido à grande variabilidade intra amostral encontrada e aos diferentes tipos de anestésicos utilizados nos vários hospitais amostrados. De modo geral, os indivíduos com maior tempo de exposição apresentaram maior número de metáfases anômalas, bem como de aberrações cromossômicas.

O aumento na frequência de aberrações cromossômicas pode indicar exposição a um agente genotóxico, fator que aumenta o risco de câncer e doenças genéticas (CARRANO & NATARAJAN, 1988). Vários danos no DNA podem ser detectados depois da exposição ao enflurano. É possível que o enflurano quebre pontes de H entre fitas simples de DNA dentro da dupla hélice, uma vez que existe uma correlação direta entre a ação anestésica e a capacidade de quebras de pontes de H. A estabilidade do DNA é alterada e a torção dentro da estrutura molecular pode ser bastante forte para quebrar as fitas. As interações hidrofóbicas entre enflurano e aminoácidos de proteínas histônicas e não histônicas podem também contribuir com uma parte do dano. Tais quebras são um fenômeno comum e indicam efeitos genotóxicos antes do reparo do DNA. A detecção dessas quebras é uma indicação da genotoxicidade (REITZ *et al.*, 1992).

As aberrações cromossômicas estão relacionadas com outros eventos anormais: 50% de todos os abortos espontâneos são cromossomicamente anormais; as populações expostas à radiação ionizante ou substâncias químicas genotóxicas têm uma frequência aumentada de aberrações cromossômicas em seus linfócitos; várias doenças humanas hereditárias (ataxia telangiectasia, anemia de Fanconi e síndrome de Bloom) são associadas com o aumento da frequência de aberrações cromossômicas e aumento na incidência de câncer.

Vários estudos experimentais ilustram a complexidade das respostas biológicas que são associadas com a exposição crônica a baixas doses de agentes potencialmente perigosos. Doses não tóxicas de agentes aparentemente inócuos podem aumentar o efeito genotóxico de carcinógenos conhecidos (AU, 1991).

Em um estudo realizado com indivíduos saudáveis para a caracterização do grau de variabilidade em anormalidades genéticas e explorar como esta variabilidade está associada com fatores externos e internos, foram encontrados valores de aberrações cromossômicas variando de 0 a 6,7% (KASUBA *et al.*, 1995). REITZ *et al.* (1998) notou variações nas taxas de danos ao DNA em linfócitos de 160 doadores depois da exposição *in vitro* ao enflurano. As razões para tal achado podem ser diferenças no reparo do DNA. Portanto, em pacientes com deficiência no reparo do DNA, a anestesia com enflurano pode induzir danos irreversíveis ao material genético. Assim, diferenças na susceptibilidade à substâncias químicas representam um parâmetro significativo na caracterização do risco humano.

As diferenças encontradas nesta investigação, embora não difiram estatisticamente, poderiam portanto, ser explicadas pela variabilidade genética individual, pelos diferentes anestésicos utilizados nos hospitais

amostrados, pela possível variação no tempo de trabalho diário dos médicos e por outros fatores que não puderam ser detectados.

O efeito clastogênico em indivíduos profissionalmente expostos aos gases anestésicos foi observado por alguns autores. BIGATTI *et al.* (1985) observaram um aumento nas freqüências de aberrações cromossômicas nas pessoas do centro cirúrgico: 5,3% em enfermeiras e 6,0% em ginecologistas e cirurgiões. Em um estudo realizado em 1987, esses autores relataram um aumento significativo nas freqüências de células aberrantes, que variaram de 2,4 a 4,0% no período de 1981 a 1983, em pessoas do centro cirúrgico expostas ao halotano. No estudo feito por esses autores, a análise citogenética mostrou um aumento significativo nas freqüências de células aberrantes no grupo exposto quando comparado ao grupo controle (KARELOVÁ *et al.*, 1992). Em outro estudo, analisando-se linfócitos cultivados de pacientes após anestesia com halotano, verificou-se um aumento no número de aberrações cromossômicas. As amostras de sangue foram obtidas antes da intervenção cirúrgica, imediatamente após o efeito da anestesia, no qual foi encontrada uma porcentagem de 6,43% de aberrações cromossômicas e 24 horas após a operação, com 8,28% de aberrações cromossômicas (GEORGIEVA *et al.* 1993).

O tipo de alteração estrutural cromossômica produzida por agentes físicos ou químicos depende das lesões induzidas no DNA (CARRANO & NATARAJAN, 1988).

No presente estudo, o fato de ter-se encontrado uma freqüência mais elevada de aberrações cromossômicas, principalmente do tipo quebra cromossômica, nos indivíduos expostos aos gases anestésicos, demonstra ter havido erros durante a duplicação do DNA ou deficiência nos mecanismos de reparo. Os compostos químicos, em sua ação sobre o DNA, podem ser divididos em duas classes: os S-independentes, ou seja, aqueles que

produzem aberrações em todas as fases do ciclo celular e os que dependem da síntese de DNA para manifestar seu efeito (S-dependentes). Os S-independentes (por exemplo, drogas radiomiméticas) induzem, como a radiação ionizante, quebras do tipo cromossômica em G0 e G1, aberrações tipo cromossômica e cromatídica em S e tipo cromatídica em G2. Os S-dependentes (como as drogas alquilantes) produzem, tal como a luz ultravioleta, seu efeito na fase S ou quando as células passam por uma fase de síntese entre a exposição e a observação do efeito (RABELLO-GAY, 1991; NATARAJAN, 1993). Os gases anestésicos em questão parecem, portanto, agir de forma semelhante a drogas radiomiméticas.

Um outro fato relevante, neste estudo, foi o registro de eventos raros, tais como adições, dicêntricos e acêntricos, que são classificados como eventos instáveis, podendo levar à morte celular (CARRANO & NATARAJAN, 1988). Esses eventos raros podem levar à deficiência ou a rearranjos complexos. Desse modo, as deficiências levam à perda de múltiplos genes, por isso, após a divisão celular as células filhas podem não sobreviver. Evidências recentes indicam que as células mortas estimulariam a divisão de novas células, o que poderia permitir o aparecimento de células cancerosas dormentes (AU, 1991). Outra possibilidade decorrente da formação desses eventos é a ocorrência de rearranjos que não causa necessariamente a morte celular, entretanto devido à justaposição de genes, os rearranjos cromossômicos podem levar à expressão anormal dos genes translocados e a anormalidade é transmitida para as células filhas. Esse tipo de aberração também parece estar relacionado ao desenvolvimento do câncer (CARRANO & NATARAJAN, 1988; AU, 1993), podendo ativar proto-oncogenes (SORSA *et al.*, 1990).

Assim, considerando-se que os dados obtidos no presente estudo foram de metáfases analisadas em primeiro ciclo de divisão, tem-se

que dificilmente houve seleção *in vitro* das células portadoras de alterações instáveis; desse modo as taxas de alterações cromossômicas observadas devem estar próximas das que efetivamente ocorrem *in vivo*.

Na amostra controle, as quebras cromatídicas foram os eventos mais freqüentes. Uma célula com quebra cromatídica em geral morre, mas se entrar num processo de divisão, apresenta quatro formas possíveis de segregar suas cromátides, exibindo uma probabilidade de 25% de que as células-filhas contenham o lote cromossômico normal e a mesma possibilidade para conter translocação equilibrada, deficiência ou adição (AU, 1991).

O risco conhecido em uma população exposta pode ser usado como um guia geral na extrapolação do risco para outra população similarmente exposta. Entretanto, pode ser um erro assumir que os riscos para populações com diferentes exposições sejam idênticos, porque existem muitos fatores que podem alterar o resultado. Um deles é a coexistência de agentes de uma segunda exposição que aumenta ou reduz o efeito dos primeiros agentes; outro é a composição étnica da população. Diferenças genéticas na metabolização de compostos químicos deveriam ser avaliadas quando da estimativa de tal risco. Os fatores genéticos não agem isoladamente de outras variáveis biológicas, tais como imunológicas, bioquímicas, nutricional, étnicas e ambientais, incluindo nessa última longas horas de exposição, estresse e condições climáticas (ONG *et al.*, 1993). Outro dado interessante é que subpopulações de linfócitos diferem na sua capacidade de reparo (REITZ *et al.*, 1992). Assim, populações com diferentes etnias podem ter diferentes respostas, ainda que expostos a agentes muito parecidos. O conhecimento dos efeitos da exposição em cada população é, portanto, útil na estimativa do risco daquela população (AU, 1991).



2 . Importância do metabolismo na resposta individual

Atualmente, sabe-se que muitos genes envolvidos nos processos de ativação e destoxificação têm caráter polimórfico, como os genes do sistema citocromo P-450. Da quantidade total inalada de halotano, 20% sofrem processos de biotransformação nesse sistema das células hepáticas (TERRA & EUGÊNIO, 1989).

O halotano pode ser metabolizado por dois meios metabólicos, ou seja, meio oxidativo e redutivo dependendo da presença de oxigênio. No primeiro, são produzidos íons brometo e ácido trifluoracetil, que são metabólitos não voláteis, e no segundo caso, 2-cloro-1,1,1-trifluoroetano (CTE) e 2-cloro-1,1-difluoroetano (CDE). Os íons cloreto e brometo são removidos do halotano, porém isso ocorre apenas com pequena quantidade de fluoreto (MARSHALL & WOLLMAN, 1987). Tem sido sugerido que os produtos intermediários da biodegradação do halotano são, provavelmente, os envolvidos na hepatotoxicidade. Uma possível explicação para isso seria a ligação covalente dos metabólitos anaeróbicos nos microsossomos e na peroxidação de lipídios dos microsossomos (RAHMAN, *et al.*, 1994). A Figura 23 ilustra as vias metabólicas dos três anestésicos em uso atualmente.

Em muitos casos, o que atua como carcinogênico e/ou mutagênico não é a molécula original, mas um intermediário no processo de destoxificação. Assim, um indivíduo exposto, que degrada o composto original em metabólitos tóxicos é submetido a altas concentrações do metabólito, e é, portanto, considerado susceptível. O indivíduo que não é susceptível, pode ou não ser exposto a altas concentrações do metabólito tóxico, sendo relativamente resistente.

As reações que metabolizam compostos químicos no organismo humano são, em sua maioria, reações de oxidação mediadas por enzimas

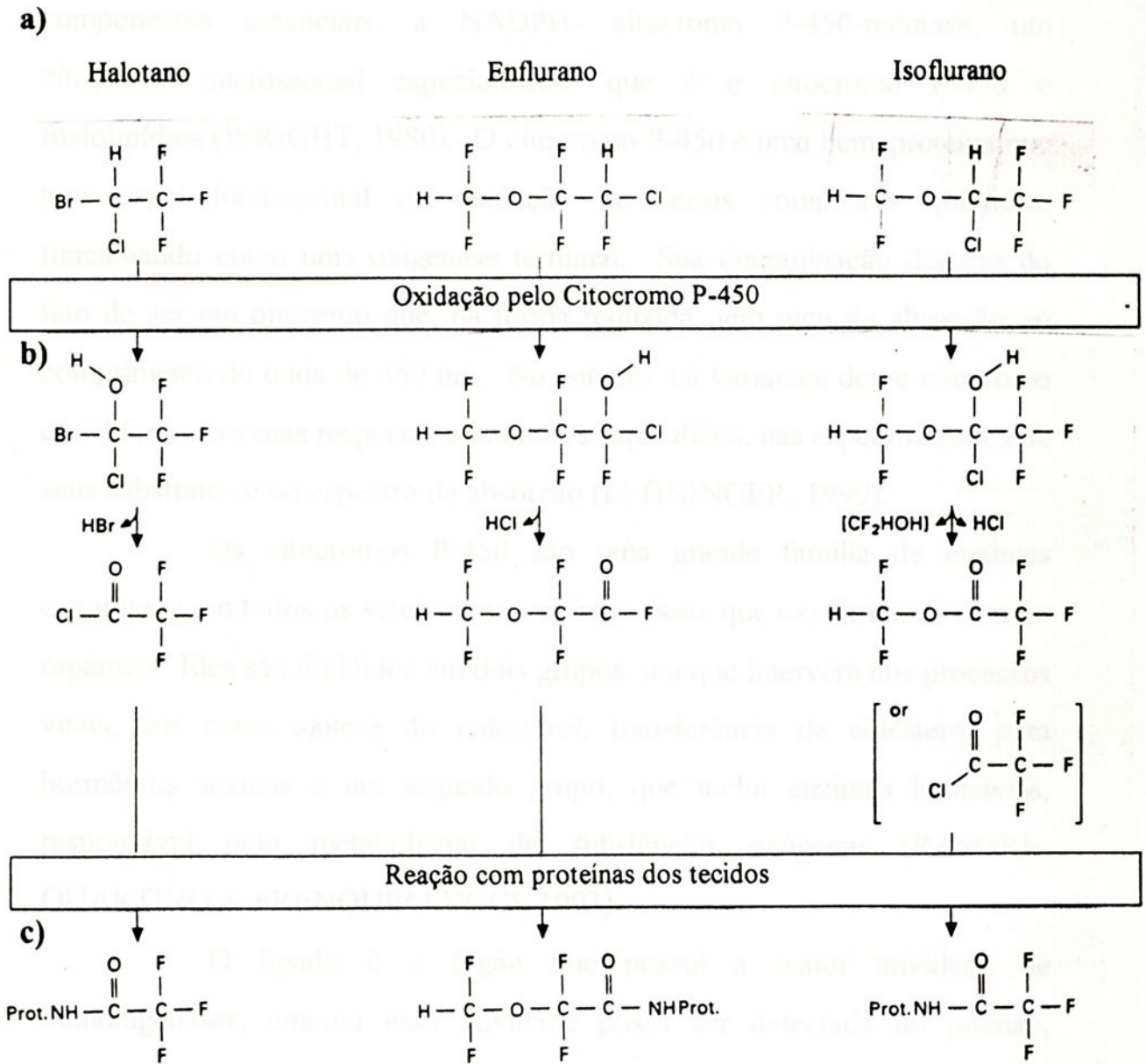


Figura 23: Diagrama das vias metabólicas do halotano, enflurano e isoflurano. **a)** fórmulas estruturais, **b)** produtos do metabolismo oxidativo após interação com o citocromo P-450 e **c)** interação de proteínas com os metabólitos. (Adaptado de ELLIOTT & STRUNIN, 1993)

localizadas principalmente na fração microssomal do fígado dos mamíferos, chamada de monoxigenases de função mista. Essa fração consiste de três componentes essenciais, a NADPH- citocromo P-450-redutase, um citocromo microssomal especializado, que é o citocromo P-450 e fosfolipídios (WRIGHT, 1980). O citocromo P-450 é uma hemeproteína que tem papel fundamental na oxidação de certos compostos químicos, funcionando como uma oxigenase terminal. Sua denominação decorre do fato de ser um pigmento que, na forma reduzida, tem pico de absorção no comprimento de onda de 450 nm. No entanto, há variantes desse citocromo que diferem em suas respostas a indutores específicos, nas especificidades de seus substratos e no espectro de absorção (LEHNINGER, 1990).

Os citocromos P-450 são uma grande família de enzimas encontrada em todos os seres vivos, enzimas essas que oxidam um substrato orgânico. Eles são divididos em dois grupos: um que intervêm nos processos vitais, tais como síntese do colesterol, transferência de colesterol para hormônios sexuais e um segundo grupo, que inclui enzimas induzíveis, responsável pelo metabolismo de substâncias exógenas (RASORE-QUARTINO & FRENQUELUCCI, 1993).

O fígado é o órgão que possui a maior atividade de monoxigenases, embora essa atividade possa ser detectada no pulmão, intestino, rins, epiderme e adrenais. No córtex adrenal, o citocromo P-450 participa de reações de hidroxilação de substâncias esteróides com a produção de hormônios adenocorticais (grupo 1). É também importante na hidroxilação de uma grande variedade de drogas, incluindo hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), como o benzo(a)pireno, que é comum nos processos de combustão, os inseticidas e ingredientes dos desodorantes, fortes mutagênicos como o N-metil-N-nitro-N-nitroguanidina, nitrosaminas, epóxidos, carbamatos e inúmeras outras substâncias mutagênicas,

carcinogênicas e teratogênicas, principalmente se são relativamente insolúveis (grupo 2). A hidroxilação dessas substâncias pode torná-las mais solúveis em água e ser um passo importante em sua destoxificação e excreção, ou transformá-las em substâncias mais reativas, como no caso de alguns HAP (LEHNINGER, 1990).

No segundo grupo dessas enzimas, já foi descrito o polimorfismo genético de duas famílias. A primeira família parece estar envolvida no metabolismo dos HAP. Existem alelos para um receptor citoplasmático de baixa e de alta atividades. As transformações mediadas pelos citocromos P-450 originam produtos intermediários reativos, que se ligam a nucleoproteínas ou ácidos nucleicos, que podem ter ação tóxica ou carcinogênica. Portanto, pessoas com genes de alta atividade têm risco aumentado para câncer. Este fenômeno, relacionado ao câncer de pulmão foi demonstrado em fumantes. A segunda família tem maior interesse farmacogenético e clínico, já que é responsável pelo metabolismo de diferentes drogas, tais como o halotano, etanol, nitrosaminas, etc. Um aumento ou redução na habilidade de metabolizar substâncias específicas pode ter como efeito farmacológico uma grande variação nas duas classes que carregam os diferentes alelos (RASORE-QUARTINO & FRENQUELUCCI, 1993).

Foi demonstrado em coelhos que radicais intermediários são produzidos durante a reação de desalogenação anaeróbica. A formação desses radicais pode estar associada com o mecanismo de hepatite produzida pelo halotano (FUJII *et al.* 1984). Em um estudo com porquinhos da índia, houve o desenvolvimento de hepatite fatal em 50% dos indivíduos amostrados após a inalação de halotano (LIND *et al.*, 1994). Foi proposto por vários autores que o mecanismo que causa problemas hepáticos em

animais é bastante semelhante ao humano (LIND *et al.*, 1990; MARIT *et al.*, 1994).

Em um estudo com porquinhos da índia, os autores utilizaram a exposição contínua a 50 e 150 ppm de halotano por 35 dias e 300 ppm de halotano por 8 dias. Foram observadas lesões hepáticas degenerativas em quase todos os animais, indicando que um mecanismo quimiotóxico estava envolvido (LIND *et al.*, 1992). No estudo de LIND *et al.* (1992), 4 horas de exposição a concentrações subanestésicas do halotano foram hepatotóxicas nos mesmos animais. Até mesmo na concentração mais baixa do halotano (0,10%), 3 dos 8 animais desenvolveram necrose centrilobular moderada. Ainda que pareça existir uma relação dose-resposta entre a concentração de halotano e o grau de injúria, a grande variabilidade nas respostas dos animais dificulta sua demonstração clara. MARIT *et al.* (1994) observaram que a grande variabilidade de respostas podem ser devidas à hereditariedade, raça, gênero e idade entre os grupos animais, entre animais do mesmo grupo e entre secções do fígado do mesmo animal. A predisposição genética é um importante fator determinante da susceptibilidade aos danos hepáticos induzidos por esse agente anestésico (LUNANA *et al.*, 1986). As recentes investigações de exposição crônica demonstraram a importância da biotransformação do halotano como um fator para o desenvolvimento de lesões em ratos. Em porquinhos da índia, a hepatotoxicidade parece ser devida a uma ligação covalente das proteínas hepáticas ao ácido trifluoracético, que é o intermediário reativo gerado durante a biotransformação oxidativa do halotano pelo sistema enzimático citocromo P-450 (LIND *et al.*, 1990; GUANTOUS *et al.*, 1990; LIND *et al.*, 1992). Segundo IAIZZO *et al.* (1990), os agentes anestésicos provocam a liberação de cálcio. Tal liberação pode ser parte do mecanismo de defesa contra a exposição a xenobióticos ou outras condições de estresse, já que o cálcio

parece estimular os eventos bioquímicos que ajudam a célula neste esforço; entretanto, eventos que elevam a concentração de cálcio intracelular a altos níveis, por prolongados períodos, estão associados com a morte celular. O aumento de cálcio também pode ser um fator na hepatotoxicidade induzida por anestésicos em ratos e porquinhos da índia, visto que recentes relatos abordam sobre o acúmulo massivo de cálcio no fígado desses animais 24 horas depois da exposição ao halotano.

A injúria hepática branda, demonstrada pelo aumento de enzimas hepáticas no sangue, parece estar relacionada com a ligação covalente do citocromo P-450 na biotransformação do halotano, gerando intermediários reativos a macromoléculas celulares. A hepatite ou necrose hepática fulminante pode ser devida a uma reação autoimune idiossincrática pela formação de intermediários reativos, gerados pela biotransformação do halotano, que agem como neoantígenos, ligando-se a proteínas do fígado (LIND *et al.*, 1989; LIND *et al.*, 1994). Ela pode ocorrer após cirurgia realizada sob anestesia geral na qual o halotano, em sua concentração normalmente segura, é componente importante. Entretanto, é observada com maior frequência após administrações repetidas de halotano num curto intervalo de tempo, sendo designada como hepatite pelo halotano.

Embora existam inúmeras indicações de que o halotano geralmente não é hepatotóxico, torna-se cada vez mais evidente que, em raras ocasiões, ocorre algum efeito hepático quando se administra o agente por uma segunda vez em curto espaço de tempo (SNOW, 1983; MARSHALL & WOLLMAN, 1987; NEUBERGER, 1990; ELLIOTT & STRUNIN, 1993). É possível que a anestesia com o halotano cause a indução de enzimas que metabolizam a droga, levando à hepatotoxicidade, mais provável depois da segunda administração (NIMMO *et al.*, 1981). O excesso de um produto tóxico ou de um metabólito capaz de induzir resposta

imune pode ocasionar hepatite (MARSHALL & WOLLMAN, 1987, LARREY & PAGEAUX, 1997). Portanto, devem ser evitadas repetidas exposições ao halotano (SNOW, 1983). Evidências de bases genéticas para a susceptibilidade à hepatite pelo halotano têm sido relatada por vários estudos. O metabolismo do halotano, particularmente o da via redutiva, pode ser determinado geneticamente (RAY & DRUMMOND, 1991). Estudos recentes mostram que os citocromos P-450E1 e 2E6 (*CYP2E1* e *CYP2E6*), são catalisadores do metabolismo oxidativo, sendo que o *CYP2E1* é o principal. Ele age na formação de ácido trifluoracético (TFA), brometos e intermediários reativos e são capazes de acetilar proteínas do fígado, que parecem ser os antígenos alvo no mecanismo de hepatite por halotano (ELIASSON & KENNA, 1996; MADAN & PARKINSON, 1996; SPRACKLIN *et al.*, 1996; NJOKU *et al.*, 1997; SPRACKLIN *et al.*, 1997). SUTHERLAND & SMITH (1992) relataram um caso de um bioquímico que utilizava halotano para sedar cobaias em um laboratório. A hepatite foi documentada como uma reação de hipersensibilidade aos neoantígenos produzidos pelo CTE. Um estudo recente feito por CLARKE *et al.* (1995), mostra que enflurano e/ou isoflurano podem produzir uma condição de hipersensibilidade similar a hepatite pelo halotano, sozinhos ou após a administração desse agente.

Do enflurano, apenas 2% do total administrado sofrem biotransformação, sendo os principais produtos formados o íon flúor e o difluormetoxitrifluoracético, eliminados pela urina (Figura 23). O restante do agente é excretado por via pulmonar, sendo também relatada redução do fluxo sanguíneo hepático (TERRA & EUGÊNIO, 1989). Evidências de danos hepáticos foram obtidas durante e após a anestesia cirúrgica com esse agente, entretanto os efeitos hepáticos são rapidamente reversíveis (MARSHALL & WOLLMAN, 1987). O fluxo sanguíneo renal e a filtração

glomerular diminuem. O enflurano é potencialmente desencadeador de hipertermia maligna em pacientes suscetíveis, podendo causar necrose hepática, porém mais raramente que o halotano. Um estudo de GARTON *et al.* (1995), demonstrou que o *CYP2E1* é responsável pela metabolização desse anestésico (TERRA & EUGÊNIO, 1989; MARSHALL & WOLLMAN, 1987).

Com relação ao isoflurano, apenas 0,2% da quantidade total inalada sofrem processos de biotransformação no fígado (TERRA & EUGÊNIO, 1989). O metabolismo limitado do isoflurano é principalmente o resultado de oxidação do carbono alfa. Similarmente ao enflurano, o carbono difluorometil do isoflurano é muito resistente à oxidação (MILLER, 1989). Os produtos formados são o ácido trifluoracético e íons flúor, excretados pelos rins (Figura 24). Por ser um anestésico de uso recente, as ações hepáticas do isoflurano não estão bem definidas. Ele diminui o fluxo sanguíneo renal, a filtração glomerular e o débito urinário. Não há evidências de nefrotoxicidade e pode ser considerado de risco potencial quanto ao efeito abortivo e teratogênico (TERRA & EUGÊNIO, 1989).

3 . Ação dos gases anestésicos sobre o ciclo celular e TCIs

No presente estudo não foi encontrada diferença significativa, comparando-se os grupos exposto e controle, em relação ao parâmetro de índice mitótico. Vários estudos realizados anteriormente apresentaram controvérsias quanto a esse índice. O enflurano inibiu a mitose em *Tetrahymena pyriformes*. Em culturas de células tumorais, o enflurano inibiu a proliferação celular e a taxa de síntese de DNA e RNA (REITZ *et al.*, 1992). Contudo, KARELOVÁ *et al.* (1992), encontraram elevada proliferação e índice mitótico no grupo exposto aos gases anestésicos quando

comparados aos controles, revelando uma tendência à estimulação da atividade proliferativa dos linfócitos.

Neste estudo, as freqüências de TCIs encontradas para a amostra exposta a gases anestésicos e controles não diferiram significativamente, concordando com o fato de que os anestésicos parecem agir como compostos químicos S-independentes, e portanto, fracos indutores de TCIs.

As trocas entre cromátides irmãs são manifestações de quebra do DNA e reunião em sítios homólogos das duas cromátides em um cromossomo durante a duplicação celular. Já que uma TCI representa a quebra de quatro fitas de DNA (troca e união em seus novos locais) um fator importante é saber se a quebra e a união ocorreram fielmente, sem produzir qualquer modificação do código genético. Vários estudos demonstraram que a freqüência de TCIs aumentou quando células animais ou humanas foram expostas a agentes mutagênicos e carcinogênicos conhecidos. Outros fatores parecem aumentar a freqüência de TCIs, como o consumo de álcool e o hábito de fumar. Os mutagênicos naturais presentes no alimento, a má nutrição calórica e protéica em crianças e infecções viróticas são fatores de influência. Não há concordância quanto a relação entre o aumento no número de TCIs e idade, segundo CARRANO & NATARAJAN, (1988) e SARDAS *et al.*, (1992). Porém, neste estudo, parece haver uma relação de aumento de TCIs com o aumento da idade com relação ao grupo controle.

Apesar dos avanços científicos na elucidação dos processos biológicos, o mecanismo molecular responsável pelas trocas ainda não é conhecido, havendo até sugestões de que seja múltiplo e, em decorrência, desconhece-se o seu verdadeiro significado (HUSUM *et al.*, 1985; VARELLA-GARCIA, 1991).



Há muito busca-se identificar se as lesões que conduzem às TCIs são parcial ou integralmente semelhantes àquelas que geram aberrações cromossômicas, como por exemplo, quebras. Vários argumentos reforçam a não coincidência entre os mecanismos de formação das TCIs e AC; não há consistência entre os resultados dos dois fenômenos em síndromes de instabilidade cromossômica como xeroderma pigmentoso, anemia de Fanconi, ataxia telangiectasia e síndrome de Bloom, que são patologias humanas caracterizadas pelo aumento nas taxas de aberrações cromossômicas espontâneas, mas apenas na síndrome de Bloom observam-se níveis elevados de TCIs. Um estudo recente, feito por LIMONI *et al.* (1997), mostra que a quebra na fita de DNA por si só não necessariamente leva à instabilidade cromossômica, mas que a complexidade ou especificidade das quebras de DNA são importantes na iniciação deste fenótipo. Além disso, os agentes degradantes do DNA, cuja atuação é independente da fase S, como a bleomicina e a radiação ionizante, são clastogênicos muito potentes, mas fracos indutores de TCIs. Por outro lado, os agentes dependentes da fase S, como a luz ultravioleta e a maioria dos agentes químicos são potentes indutores de TCIs e há indicações de que atuem de forma variada (VARELLA-GARCIA, 1991).

Em um estudo em que foram analisadas 67 pessoas continuamente expostas a vários anestésicos por um período que variou de 2 a 29 anos, os autores encontraram diferenças significativas nas frequências de TCIs entre expostos e controles. Um aumento significativo no número de TCIs foi ainda encontrado para fumantes expostos, quando comparados aos fumantes controles. Embora a frequência de TCIs pareça ser mais alta entre fumantes expostos do que não fumantes expostos, a diferença não foi significativa (SARDAS *et al.*, 1992). CERMAKOVA (1987 *apud* KARELOVÁ *e. al.*, 1992) encontrou um aumento significativo das

freqüências de TCIs por células nos funcionários do departamento de anestesiologia e ressuscitação expostos ao halotano, quando comparados aos controles. No estudo, realizado por KARELOVÁ *et al.* (1992) foram encontradas diferenças significativas comparando-se os grupos de indivíduos expostos e controles. Entretanto, vários estudos não encontraram diferenças significativas no número de TCIs entre indivíduos expostos a baixas concentrações anestésicas e controles não expostos (HUSUM & WULF, 1980; HUSUM *et al.*, 1981; HUSUM *et al.*, 1983; HUSUM *et al.*, 1985; LAMBERTI *et al.*, 1989) e mais especificamente em relação ao enflurano (REITZ *et al.*, 1992) e halotano em pacientes (GEORGIEVA *et al.*, 1993).

Existem controvérsias sobre qual o melhor método de avaliação estatística das TCIs. Muitas vezes a análise estatística não têm auxiliado significativamente os pesquisadores na decisão de considerar ou não um agente como indutor de TCIs. A conduta mais simples tem sido considerar como positivos os agentes que elevam a freqüência das TCIs a duas vezes a dos controles e que têm resposta dependente da dose. Em casos em que há aumento, mas esse não atinge o limite referido, tais agentes podem ser considerados fracos indutores de TCIs (VARELLA-GARCIA, 1991).

Quanto ao índice de proliferação celular, a análise estatística não mostrou diferença significativa entre os indivíduos expostos a gases anestésicos e indivíduos controles, mas pode-se notar que a amostra controle apresenta-se mais homogênea.

Com relação a estudos de exposição ocupacional enfocando atividade mutagênica de indivíduos expostos a anestésicos, encontram-se os dados de PASQUINI *et al.* (1989) que, revelaram aumento na freqüência de aberrações cromossômicas mas não na de troca entre cromátides irmãs em linfócitos do sangue periférico, concordantes com os dados obtidos neste estudo.

Em conclusão, este estudo pretendeu contribuir com os poucos achados da literatura que enfocam a monitoração citogenética em indivíduos ocupacionalmente expostos a gases anestésicos. Muitas controvérsias ainda persistem, contudo nossos dados demonstram que tais gases induzem lesões no DNA, lesões essas do tipo cromossômico, resultantes de erros durante a duplicação do DNA ou deficiência do sistema de reparo sugerindo, portanto, sua ação genotóxica. É necessário, todavia ressaltar-se que os gases anestésicos, apesar da referida ação genotóxica, não se mostraram indutores de TCIs, fato esse perfeitamente justificado pela literatura (HUSUM & WULF, 1980; HUSUM *et al.*, 1981; HUSUM *et al.*, 1983; HUSUM *et al.*, 1985; LAMBERTI *et al.*, 1989; VARELLA-GARCIA, 1991).

Com relação aos índices mitótico e de proliferação celular não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos estudados, coincidindo com os dados de estudos anteriores (TANNENNBAUM & GOLDBERG, 1985; REDFERN, 1990; REITZ *et al.*, 1992).

4 . Efeitos adversos dos anestésicos na espécie humana

Embora existam alguns relatos negativos quanto à mutagenicidade ou carcinogenicidade de anestésicos inalados, há ainda muitas controvérsias sobre o assunto. De modo geral, a equipe da sala de cirurgia parece estar exposta a um maior perigo devido a esses gases anestésicos serem residuais (SNOW, 1983). Relatou-se que anestesiológicos do sexo masculino têm um índice aumentado de suicídios, apesar de não existir um acordo sobre se isso difere significativamente da ocorrência global aumentada de suicídios entre médicos homens em geral (BRUCE *et al.*, 1974; LEW, 1979; VESSEY & NUNN, 1980; MILLER, 1989). As mulheres expostas habitualmente ao ambiente da sala de cirurgia

estão sujeitas a um risco maior de aborto espontâneo durante o primeiro trimestre de gestação. A incidência é de 1,5 a 2 vezes superior à de pessoas não expostas. A maior incidência de aborto é encontrada entre as médicas anesthesiologistas, enfermeiras que trabalham com anestesia e enfermeiras e técnicas da sala de cirurgia (BADEN *et al.*, 1976; COLLINS, 1978; MILUNSKY, 1979; BADEN & SIMMON, 1980; SNOW, 1983; GUIRGUS *et al.*, 1990; IMBRIANI *et al.*, 1991; LEMOS NETO, 1992). Resultados similares foram encontrados em dentistas e assistentes que utilizaram anestésicos inalados (COHEN *et al.*, 1980; WYROBEK *et al.*, 1981). Contudo, há dados discordantes como os de HEMMINKI *et al.* (1985), que não detectaram aumento significativo na frequência de abortos espontâneos e malformações na descendência de enfermeiras expostas a gases anestésicos. Segundo um estudo realizado em 1970, a perda do feto entre mulheres ocupacionalmente expostas a anestésicos constitui o dobro em relação às não expostas, além do que os partos prematuros mostram-se 4,5 vezes mais frequentes em anestesistas. Uma modificação na relação dos sexos também foi notada, de 50/50 para 59/41 em favor das mulheres. Nas esposas de anesthesiologistas, não expostas ao ambiente da sala de cirurgia, a taxa de aborto apresentou-se três vezes maior e o parto prematuro quatro vezes maior do que nos controles (COLLINS, 1978; BADEN & SIMMON, 1980).

O prolongamento do ciclo mitótico poderia explicar o número de abortos espontâneos, com embriões aneuplóides provavelmente resultantes da não disjunção meiótica (KRAMERS & BURM, 1979). Entretanto, segundo COHEN *et al.* (1974, *apud* INFANTE, 1979), esse risco aumentado não existe. Os filhos de mulheres que trabalham em salas de cirurgia apresentam uma incidência elevada de anormalidades congênitas (MILUNSKY, 1979; CREMONESI, 1987; SNOW, 1983), anormalidades essas que variam desde grandes anomalias e deformidades até defeitos menos



sérios (COLLINS, 1978). O risco é duas vezes maior nas anesthesiologistas que entre as pediatras não expostas (SNOW, 1983 e LEMOS NETO, 1992). Apesar disso, segundo IMBRIANI *et al.* (1991), não existe, ainda, entendimento quanto à freqüência dessas malformações. A infertilidade feminina também parece ser maior em mulheres que trabalham em ambiente cirúrgico (LEMOS NETO, 1992). COHEN *et al.* (1974 *apud* INFANTE, 1979) relataram uma elevação altamente significativa de anormalidades congênitas entre filhos de esposas não expostas, casadas com homens que trabalham nas salas de cirurgia, concordante com os dados de KNILL-JONES *et al.* (1975 *apud* INFANTE, 1979) que também relataram uma associação entre homens expostos e anormalidades congênitas totais entre sua prole. A exposição de homens não foi associada com um aumento na freqüência de abortos espontâneos. Em contraste com essas observações, COHEN *et al.* (1974 *apud* INFANTE, 1979) relataram um índice significativo de abortos espontâneos entre as esposas de dentistas expostos a gases anestésicos, ao passo que defeitos de nascimento não tiveram um valor significativo. As diferenças podem ser o resultado de proporções diferentes de exposição a diferentes gases anestésicos.

Foram realizadas diversas análises na tentativa de se estimar a freqüência do câncer entre trabalhadores expostos a anestésicos. Em uma delas, a American Society of Anesthesiologists (ASA) realizou um estudo retrospectivo de 49.595 indivíduos que trabalhavam em centros cirúrgicos em todos os estados norte-americanos. Observou-se um aumento de 1,3 a 2,0 vezes na freqüência de câncer entre membros femininos da ASA e da American Association of Nurse Anesthetists quando comparados com grupos controle não expostos, todavia não foi observado aumento na freqüência de câncer entre os homens estudados (MILLER, 1989). Em levantamentos epidemiológicos foram identificados vários tipos de riscos: abortos,

nascimentos prematuros e natimortos, defeitos congênitos, câncer, hepatopatias, fadiga, bem-estar e desempenho diminuídos (COLLINS, 1978). Vários estudos sugerem que a exposição crônica aos anestésicos nos centros cirúrgicos representam um risco para saúde em pessoas ocupacionalmente expostas (IMBRIANI *et al.*, 1991). Entretanto, por causa dos problemas de interpretação das análises epidemiológicas, muitos pesquisadores se voltaram para outros testes para proporcionar informações sobre o potencial carcinogênico de anestésicos específicos (MILLER, 1989).

Em conclusão, dados citogenéticos podem ser usados para documentar danos resultantes da exposição à substâncias químicas e para estimar o risco potencial à saúde da população em estudo. Em um extenso estudo, SORSA *et al.* (1990) relataram a correlação entre indivíduos com aberrações cromossômicas e o eventual desenvolvimento de malignidades. A exposição a baixas doses de compostos químicos, na maioria dos casos, pode não induzir muitos danos e as relações dose-efeito raramente são obtidas em estudos de exposição química, mas é possível o desenvolvimento a longo prazo de problemas de saúde para o indivíduo (SORSA *et al.*, 1990; AU, 1991).

Pelo exposto, juntamente com os resultados provenientes de outros estudos, pode-se afirmar que muito ainda deve ser feito para a determinação do real potencial de risco a que estão expostos os médicos anestesiológicos. Outro fator importante, que deve ser levado em conta, é que grande parte da contradição deriva do fato de que a maioria dos estudos foi realizada em centros cirúrgicos com sistema de renovação do ar, fato esse que não ocorre em todos os hospitais, incluindo aqueles nos quais os indivíduos aqui amostrados trabalham. Quando fazem anestésias de longa duração, os médicos ficam continuamente respirando, na sala de cirurgia, uma atmosfera carregada de odores alcoólicos, etérics, gases anestésicos e

outros produtos. Também os procedimentos radiológicos, o estresse, as longas horas de exposição aos produtos de limpeza usados na área cirúrgica são fatores que podem atingir o anestesiológico. Além disso, muitos compostos incluindo o álcool, drogas terapêuticas, poluentes ambientais e agrícolas podem agir como indutores de enzimas hepáticas, que podem determinar sérios problemas.

Levando-se em conta a natureza multifatorial da exposição de profissionais da saúde, medidas devem ser tomadas para minimizar a exposição ocupacional a agentes químicos com potencial genotóxico conhecido ou possível. Assim sendo, é possível prevenir, efetivamente, a ocorrência de efeitos danosos à saúde em tais profissionais. A reivindicação por salas de cirurgias melhor equipadas, com sistemas de ventilação e exaustão adequados, bem como sua manutenção devem ser seguidas.

BADEN L. M., SIMMON V. F. Mutagenic effects of inhalational anesthetics. *Mutagenesis*, v.73, p.169-80, 1980

BASLER A., ROHRBORN G. Lack of mutagenic effects of halothane on mammals in vivo. *Anesthesiology*, v.55, p.143-7, 1981

BIGATTI P., LAMBERTI L., ARDITO G., ARMELINDO F., MALANETTO C. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in occupationally exposed workers. *Med. Lav.*, v.76, p.134-9, 1985

BRUCE D. L., LIDE K. A., SMITH N. J., SOLTZER F., DYKES M. H. M. A prospective survey of anesthesiologist mortality, 1967-1971. *Anesthesiology*, v.41, p.71-4, 1974



VI . Referências bibliográficas:

- AU, W. W. Monitoring human populations for effects of radiation and chemical exposures using cytogenetic techniques. **Occup. Med.**, v.6, p.597-611, 1991.
- AU, W. W. Abnormal chromosome repair and risk of developing cancer. **Environ. Health Perspec. Suppl.**, v.101, p.303-8, 1993.
- BADEN, J. M., BRINKENHOFF, M., WHARTON, R. S., HITT, B. A., SIMMON, V. F., MAZZE, R. I. Mutagenicity of volatile anesthetics: halothane. **Anesthesiology**, v.45, p.311-8, 1976.
- BADEN, J. M., SIMMON, V. F. Mutagenic effects of inhalational anesthetics. **Mutat. Res.**, v.75, p.169-89, 1980.
- BASLER, A., RÖHRBORN, G. Lack of mutagenic effects of halotane in mammals *in vivo*. **Anesthesiology**, v.55, p.143-7, 1981.
- BIGATTI, P., LAMBERTI, L., ARDITO, G., ARMELLINO, F., MALANETTO, C. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in occupationally exposed workers. **Med. Lav.**, v.76, p.334-9, 1985.
- BRUCE, D. L., EIDE, K. A., SMITH, N. J., SELTZER, F., DYKES, M. H. M. A prospective survey of anesthesiologist mortality, 1967-1971. **Anesthesiology**, v.41, p. 71-4, 1974.

- CAMARGO, J. L. V. Carcinogênese. In: RABELLO-GAY, M. N., RODRIGUES, M. A. L. R., MONTELEONE-NETO, R. (Ed.) **Mutagênese, teratogênese e carcinogênese: métodos e critérios de avaliação.** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991. p.177-192.
- CARRANO, A. V., NATARAJAN, A. T. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. **Mutat. Res.**, v.204, p.379-406, 1988.
- CLARKE, J. B., THOMAS, C., CHEN, M., HASTINGS, K. L., GANDOLFI, A. J. Halogenated anesthetics form liver adducts and antigens that cross-react with halothane - induced antibodies. **Int. Arch. Allergy Immunol.**, v.108, p.24-32, 1995.
- COHEN, E. N., BROWN, B. W., WU, M. L., WHITCHER, C. E., BRODSKY, J. B., GIFT, H. C., GREENFIELD, W., JONES, T. W., DRISCOLL, E. J. Ocupacional disease in dentistry and chronic exposure to trace anesthetic gases. **Jada**, v.101, p.21-31, 1980.
- COLLINS, V. J. **Princípios de anestesiologia.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978.
- CREMONESI, E. **Temas de anestesiologia.** São Paulo: Sarvier, 1987.



- ELIASSON, E., KENNA, J. G. Cytochrome P-4502E1 is a cell surface autoantigen in halothane hepatitis. **Mol. Pharmacol.**, v.50, p.573-582, 1996.
- ELLIOTT, R. H., STRUNIN, L. Hepatotoxicity of volatile anaesthetics. **Br. J. Anaesth.**, v.70, p.339-48, 1993.
- EL-ZEIN, R., SMAW, R., TYRING, S., AU, W. W. Chromosomal radiosensitivity of lymphocytes from skin cancer-prone patients. **Mutat. Res.**, v.335, p.143-9, 1995.
- FERRARI, I. Teste do micronúcleo em cultura temporária de linfócitos. In: RABELLO-GAY, M. N., RODRIGUES, M. A. L. R., MONTELEONE-NETO, R. (Ed.) **Mutagênese, teratogênese e carcinogênese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991. p.123-40.
- FUJII, K., MORIO, M., KIKUCHI, H., ISHIHARA, S., OKIDA, M., FICOR, F. *In vivo* spin-trap study on anaerobic dehalogenation of halothane. **Life Sci.**, v.35, p.463-8, 1984.
- GARTON, K. J., YUEN, P., MEINWALD, J., THUMMEL, K. E., KHARASCH, E. D. Stereoselective metabolism of enflurane by human liver cytochrome P-4502E1. **Drug Metab. Dispos.**, v.23, p.1426-30, 1995.



- GEORGIEVA, V., KLINEV, S., PUKHTOVA, B., DAFINOVA, E. The clastogenic effects of halothane on the lymphocytes from patients operated on under halothane anesthesia. **Khirurgiia**, v.46, p.13-5, 1993.
- GUANTOUS, H. N., FERNANDO, J., GANDOLFI, A. J., BRENDDEL, K. Toxicity of halothane in guinea pig liver slices. **Toxicology**, v.62, p.59-69, 1990.
- GUIRGUIS, S. S., PELMEAR, P. L., ROY, M. L., WONG, L. Health effects associated with exposure to anaesthetic gases in Ontario hospital personnel. **Br. J. Ind. Med.**, v.47, p.490-7, 1990.
- HEMMINKI, K., KYRÖNEN, P., LINDBOHR, M. L. Spontaneous abortions and malformations in the offspring of nurses exposed to anaesthetic gases, cytostatic drugs and other potential hazards in hospital, based on registered information of outcome. **J. Epidemiol. Community Health**, v.39, p.141-7, 1985.
- HUSUM, B., NIEBUHR, E., WULF, H. C., NORGAARD, I. Sister-chromatid exchanges and structural aberrations in lymphocytes in operating room personnel. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, v.27, p.262-5, 1983.
- HUSUM, B., WULF, H. C. Sister chromatid exchanges in lymphocytes in operating room personnel. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, v.24, p.22-4, 1980.

HUSUM, B., WULF, H. C., NIEBUHR, E. Sister-chromatid exchanges in lymphocytes after anaesthesia with halothane or enflurane. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, v.25, p.97-8, 1981.

HUSUM, B., WULF, H. C., NIEBUHR, E. Monitoring of sister-chromatid exchange in lymphocytes of nurse-anesthetists. **Anesthesiology**, v.62, p.475-9, 1985.

IAIZZO, P. A., SEEWALD, M. J., POWIS, G., VAN DYKE, R. A. The effects of volatile anesthetic on Ca^{++} mobilization in rat hepatocytes. **Anesthesiology**, v.72, p.504-9, 1990.

IARC. Cancer: causes, occurrence and control. Tomais, L. (Ed.). Lyon: IARC Scientific Publications, 1991.

IMBRIANI, M., GHITTORI, S., ZADRA, P., IMBERTI, R. Biological monitoring of the occupational exposure to halothane (Fluothane) in operating room personnel. **Am. J. Ind. Med.**, v.20, p.103-12, 1991.

INFANTE, P. F. Epidemiologic approaches for surveillance of genetic hazards with particular reference to anesthetics gases. In: BERG, K. (Ed.) **Genetic damage in man caused by environmental agents**. New York: Academic Press, 1979. p.289-300.

ISCN 1978: an international system for human cytogenetic nomenclature. Basel: Karger, Cytogenetics and Cell Genetics, v.21, 1978.

ISCN 1995: an international system for human cytogenetic nomenclature.

Basel: Karger, Cytogenetics and Cell Genetics, 1995.

KARELOVÁ, J., JABLONICKÁ, A., GAVORA, J., HANO, L.

Chromosome and sister-chromatid exchange analysis in peripheral lymphocytes and mutagenicity of urine in anesthesiology personnel. **Int. Arch. Occup. Environ. Health**, v.64, p.303-6, 1992.

KASUBA, V., SENTIJA, K., GARAJ-VRHORAC, V., TUCIC, A.

Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from control individuals. **Mutat. Res.**, v.346, p.187-93, 1995.

KRAMERS, P. G. N., BURM, A. G. L. Mutagenicity studies with halothane in *Drosophila melanogaster*. **Anesthesiology**, v.50, p.510-3, 1979.

LAMBERTI, L., BIGATTI, P., ARDITO, G., ARMELLINO, F.

Chromosome analysis in operating room personnel. **Mutagenesis**, v.4, p.95-7, 1989.

LAND, P. C., OWEN, E. L., LINDE, H. W. Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anesthetics during early spermatogenesis. **Anesthesiology**, v.54, p.53-6, 1981.

LARREY, D., PAGEAUX, G. P. Genetic predisposition to drug-induced hepatotoxicity. **J. Hepatol.**, v.26, p.12-21, 1997.

LEHNINGER, A. L. Transporte de elétrons, fosforilação oxidativa e regulação da produção de ATP. In: _____. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1990. p.333-61.

LEMONS NETO, S. V. (Ed.) Existe risco profissional para o anesthesiologista? **Bol. Anest.**, nº 2, p.5-12, 1992.

LEW, E. Mortality experience among anesthesiologists, 1954-1976. **Anesthesiology**, v.51, p.195-9, 1979.

LIMONI, C. L., KAPLAN, M. I., PHILLIPS, J. W., ADAIR, G. M., MORGAN, W. F. Differential induction of chromosomal instability by DNA strand-breaking agents. **Cancer Res.**, v.57, p.4048-56, 1997.

LIND, R. C., GANDOLFI, A. J., HALL, P. M. The role of oxidative biotransformation of halothane in the guinea pig model of halothane - associated hepatotoxicity. **Anesthesiology**, v.70, p.649-53, 1989.

LIND, R. C., GANDOLFI, A. J., HALL, P. M. Covalent binding of oxidative biotransformation intermediates is associated with halothane hepatotoxicity in guinea pigs. **Anesthesiology**, v.73, p.1208-13, 1990.

LIND, R. C., GANDOLFI, A. J., HALL, P. M. Subanaesthetic halothane is hepatotoxic in the guinea pig. **Anesth. Analg.**, v.74, p.559-63, 1992.

LIND, R. C., GANDOLFI, A. J., HALL, P. M. A model for fatal halothane hepatitis in the guinea pig. **Anesthesiology**, v.81, p.478-87, 1994.



LUNANA, C. A., COUSINS, M. J., HALL, P. M. Genetic predisposition to liver damage after halothane anesthesia in guinea pigs. **Anesth. Analg.**, v.65, p.1143-8, 1986.

MADAN, A., PARKINSON, A. Characterization of the NADPH-dependent covalent binding of [14C] halothane to human liver microsomes: a role for cytochrome P-4502E1 at low substrate concentrations. **Drug Metab. Dispos.**, v.24, p.1307-13, 1996.

MARIER, J. R. Halogenated hydrocarbon environmental pollution: the special case of halogenated anesthetics. **Environ. Res.**, v.28, p.212-39, 1982.

MARIT, G. B., DODD, D. E., GEORGE, M. E., VINEGAR, A. Hepatotoxicity in guinea pigs following acute inhalation exposure to 1,1-dichloro-2,2,2-trifluoroethane. **Toxicol. Pathol.**, v.22, p.404-14, 1994.

MARSHALL, B. E., WOLLMAN, H. Anestésicos gerais. In: GILMAN, A. G., GOODMAN, L. S., RALL, T. W., MURAD, F. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 7 edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. cap.14, p.182-91.

MILLER, R. D. **Tratado de anestesia**. São Paulo: Manole, 1989.



MILUNSKY, A. The role of antenatal diagnosis in the prevention of birth defects caused by environmental mutagens. In: BERG, K. (Ed.) **Genetic damage in man caused by environmental agents**. New York: Academic Press, 1979. p.289-300.

PASQUINI, R., MONARCA, S., SCASSELLATI SPORZOLINI, G.

MURRAY, J. M., TRINICK, T. R. Plasma fluoride concentrations during and after prolonged anesthesia: a comparison of halothane and isoflurane. **Anesth. Analg.**, v.74, p.236-40, 1992.

NATARAJAN, A. T. Mechanisms for induction of mutations and chromosome alterations. **Environ. Health Perspect.**, v.101, p.225-9, 1993.

NEUBERGER, J. M. Halothane and hepatitis. Incidence, predisposing

factors and exposure guidelines. **Drug Saf.**, v.5, p.28-38, 1990.

RAHMAN, M., FUJII, K., SATO, K., YUQI, G. Isoflurane increases the

NIMMO, W. S., THOMPSON, P. G., PRESCOTT, L. F. Microsomal enzyme induction after halothane anaesthesia. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, v.12, p. 433-4, 1981.

RASORE-QUARTINO, A., FREINQUELLUCCI, G. Pharmacokinetics of

NJOKU, D., LASTER, M. J., GONG, D. H., EGER, E. I. 2nd, REED, G. F., MARTIN, J. L. Biotransformation of halothane, enflurane, isoflurane and desflurane to trifluoroacetylated liver proteins: association between protein acylation and hepatic injury. **Anasth. Analg.**, v.84, p.173-8, 1997.

REIDFERN, N. Mobility among anesthetics. **Br. J. Hosp. Med.**, v.13,

p.377-81, 1991.

- ONG, C. N., JEYARATNAM, J., KOH, D. Factors influencing the assessment and control of occupational hazards in developing countries. **Environ. Res.**, v.60, p.112-23, 1993.
- PASQUINI, R., MONARCA, S., SCASSELLATI SFORZOLINI, G., BAULEO, F. A., ANGELI, G., CERAMI, F. Thioethers, mutagens and D-glucaric acid in urine of operating room personnel exposed to anesthetics. **Teratog., Carcinog. Mutag.**, v. 9, p.359-68, 1989.
- RABELLO-GAY, M. N. Teste com linfócitos do sangue periférico. In: RABELLO-GAY, M. N., RODRIGUES, M. A. L. R., MONTELEONE-NETO, R. (Ed.) **Mutagenese, teratogenese e carcinogenese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991. p.97-105.
- RAHMAN, M., FUJII, K., SATO, N., YUGE, O. Isoflurane increases the anaerobic metabolites of halothane. **J. Appl. Toxicol.**, v.14, p.43-6, 1994.
- RASORE-QUARTINO, A., FRENQUELLUCCI, G. Pharmacokinetics of cytochrome P-450. **Pathologica**, v.85, p.395-410, 1993.
- RAY, D. C., DRUMMOND, G. B. Halothane hepatitis. **Br. J. Anaesth.**, v.67, p.84-99, 1991.
- REDFERN, N. Morbidity among anaesthetists. **Br. J. Hosp. Med.**, v.43, p.377-81, 1990.

- REITZ, M., DASGUPTA, K., BRANDT, L. Detection of DNA damage in stimulated human lymphocytes after enflurane exposure *in vitro*. **Environ. Res.**, v.59, p.476-84, 1992.
- REITZ, M., DASGUPTA, K., LOBER, G., KLEEMANN, P. Variations of DNA damage in human lymphocytes after enflurane exposure *in vitro*. **Arzneim. Forsch.**, v.48, p.120-4, 1998.
- SARDAS, S., CUHRUK, H., KARAKAYA, A. E., ATAKURT, Y. Sister-chromatid exchanges in operating room personnel. **Mutat. Res.**, v.279, p.117-20, 1992.
- SAVITZ, D. A., SONNENFELD, N. L., OLSHAN, A. F. Review of epidemiologic studies of paternal occupational exposure and spontaneous abortion. **Am. J. Ind. Med.**, v.25, p.361-83, 1994.
- SMITH, T. C., WOLLMAN, H. História e princípios da anestesiologia. In: GILMAN, A.G., GOODMAN, L.S., RALL, T.W., MURAD, F. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 7edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. cap.13, p.172-6.
- SNOW, J. C. **Manual de anestesia**. Rio de Janeiro: Medsi, 1983.
- SORSA, M., OJAJÄRVI, A., SALOMAA, S. Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals. **Teratog., Carcinog. Mutag.**, v. 10, p.215-21, 1990.



SPRACKLIN, D. K., HANKINS, D. C., FISHER, J. M., THUMMEL, K. E., KHARASCH, E. D. Cytochrome P-4502E1 is the principal catalyst of human oxidative halothane metabolism *in vitro*. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.281, p.400-11, 1997.

SPRACKLIN, D. K., THUMMEL, K. E., KHARASCH, E. D. Human reductive halothane metabolism *in vitro* is catalysed by cytochrome P-4502A6 and 3A4. **Drug Metab. Dispos.**, v.24, p.976-83, 1996.

SUTHERLAND, D. E., SMITH, W. A. Chemical hepatitis associated with occupational exposure to halothane in a research laboratory. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.34, p.423-4, 1992.

TANNENBAUM, T. N., GOLDBERG, R. J. Exposure to anesthetic gases and reproductive outcome. **J. Occup. Med.**, v.27, p.659-68, 1985.

TERRA, E. S. H., EUGÊNIO, A. G. B. (Coord.). **Princípios de anestesiologia clínica**. São Paulo: UNICAMP, 1989.

VARELLA-GARCIA, M. Teste de troca entre cromátides-irmãs (TCI). In: RABELLO-GAY, M. N., RODRIGUES, M. A. L. R., MONTELEONE-NETO, R. (Ed). **Mutagênese, teratogênese e carcinogênese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1991. p.123-40.

VESSEY, M. P., NUNN, J. F. Ocupacional hazards of anaesthesia. **Br. Med. J.**, v.281, p.696-8, 1980.



WRIGHT, A. The role of metabolism in chemical mutagenesis and chemical carcinogenesis. **Mutat. Res.**, v.75, p.215-41, 1980.

WYROBEK, A. J., BRODSKY, J., GORDON, L., MOORE, D. H.,
WATCHMAKER, G., COHEN, E. N. Sperm studies in anesthesiologists.
Anesthesiology, v.55, p.527-32, 1981.



VII . Resumo

Os anestésicos de inalação estão relacionados a uma variedade de resultados adversos à saúde. Alguns desses compostos têm estrutura química muito similar a carcinógenos conhecidos e suas vias metabólicas resultam em compostos com atividade carcinogênica. Em adição, existem poucos dados relacionando o monitoramento citogenético com o tipo de exposição profissional e há relatos de que existem diferenças entre procedimentos e condições dos hospitais entre diversos países. No Brasil, não existem dados relacionados a esse respeito. Assim, o que realizamos foi um estudo com anestesiológicos, homens e mulheres com o mesmo período de exposição ocupacional, pareados por sexo, idade e condição social com o grupo controle. Os parâmetros citogenéticos considerados foram as frequências de aberrações cromossômicas e trocas entre cromátides irmãs (TCIs) em respectivamente, 320 metáfases de primeira divisão e 30 células de segunda divisão. Para cada pessoa, o índice mitótico e o índice de proliferação celular foram examinados. Dentre os anestésicos mais usados atualmente encontram-se o halotano, o enflurano e o isoflurano.

A análise citogenética mostrou um aumento nas frequências de metáfases anômalas e aberrações cromossômicas por célula no grupo exposto quando comparado com o grupo controle. Entretanto, os gases anestésicos não se mostraram indutores de TCIs, uma vez que não houve diferença entre as frequências de TCIs entre as amostras exposta e controle. Os índices de proliferação e mitótico não diferiram significativamente no grupo exposto quando comparados com o grupo controle. Nossos dados sugerem que os anestesiológicos podem representar um grupo de risco entre pessoas ocupacionalmente expostas e as condições de trabalho devem ser melhoradas.



VIII . Abstract

The volatile inhalation anaesthetics have been implicated in a variety of adverse health outcomes. Some of those compounds have chemical structures roughly similar to known carcinogens and their metabolic pathways result in compounds having carcinogenic activity. In addition, there are few data concerning cytogenetic monitoring in such kind of professional exposure and has to be accounted that there are differences between countries procedures and hospital conditions. In Brazil, there is no data regarding this subject. In according of that we carried out a study with anaesthesiologists, men and women having the same occupational exposure period, matched by gender, age and social condition with a control group. The cytogenetic endpoints considered were chromosome aberration and sister chromatid exchanges (SCE) frequencies in, respectively, 320 first division metaphases and 30 second division cells. In each subject, the mitotic index and proliferation index were examined. The most frequently employed inhalation anesthetic are halothane, enflurane and isoflurane.

The cytogenetic analysis showed increased frequencies of metaphases with aberrant events and chromosome aberrations per cell in the exposed group as compared with the controls. However, the anesthetic gases did not show to be a SCEs inducer, once there was no difference between SCEs frequencies in exposed and control samples. The proliferation and mitotic indices did not differ significantly in the exposed group as compared with controls. Our data suggest that anesthesiologists may represent a risk group of occupational exposed people and the working conditions should be improved.

keywords: anesthetics gases, occupational exposure, anesthesiologists, biotransformation, chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges, halothane, enflurane, isoflurane, biological monitoring, mutagenicity.



