



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Aline Garcia Aun

**Exposição ocupacional anestésica durante a
residência médica - impacto no estresse
oxidativo e nas avaliações toxicogenética,
bioquímica e neuroendócrina: estudo
longitudinal**

Tese apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em
Anestesiologia na área de
Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Mariana Gobbo Braz

**Botucatu
2021**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Aline Garcia Aun

**Exposição ocupacional anestésica durante a
residência médica - impacto no estresse oxidativo e
nas avaliações toxicogenética, bioquímica e
neuroendócrina: estudo longitudinal**

Tese apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em
Anestesiologia na área de
Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Mariana Gobbo Braz

Botucatu
2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Aun, Aline Garcia.

Exposição ocupacional anestésica durante a residência médica : impacto no estresse oxidativo e nas avaliações toxicogenômica, bioquímica e neuroendócrina: estudo longitudinal / Aline Garcia Aun. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Mariana Gobbo Braz

Capes: 40102130

1. Anestésicos - Exposição ocupacional. 2. Estresse oxidativo. 3. Expressão gênica. 4. Dano ao DNA. 5. Fígado - Doenças. 6. Toxicidade. 7. Hormônios.

Palavras-chave: Dano ao DNA; Estresse oxidativo; Expressão gênica; Hepatotoxicidade; Hormônios.

Dedicatória

"Porque dele, e por ele, e para ele são todas as coisas; gloria, pois, a ele eternamente" Romanos 11:36

A Deus por me dar força, coragem e serenidade em todos os momentos guiando meus passos para os caminhos certos.

"Honra o teu pai e a tua mãe, este é o primeiro mandamento como promessa para que tudo te corra bem..." Efésios 6:1-3

*Aos meus pais **Pedro e Ivany**, sinônimo de caráter, honestidade e perseverança, que dedicaram a vida em me ensinar o caminho do bem e são os verdadeiros responsáveis pela minha formação e pela pessoa que sou. Sempre apoiando minhas decisões, me acolhendo nos momentos difíceis e vibrando com minhas conquistas. Meu eterno amor a vocês.*

"Aquele que ama a seu irmão permanece na luz, e nele não há tropeço..." João 2:10.

*À minha irmã **Fernanda** que é minha amiga, confiante, apoiadora e fonte de inspiração, sempre me incentivou e me ajudou inúmeras vezes. Você é minha melhor parte e o meu melhor sorriso. Amizade, amor e união são e sempre serão o pilar da nossa relação.*

O amor é paciente, o amor é bondoso. Não inveja, não se vangloria, não se orgulha. Não maltrata, não procura seus interesses, não se ira facilmente, não guarda rancor. Tudo sofre, tudo crê, tudo espera, tudo suporta" 1 Coríntios 13:4-7

*Ao meu noivo **Paulo Henrique** que entrou na minha vida no início desta jornada e fez dela mais leve e alegre. Meu amor, meu companheiro e incentivador.*

Agradecimento Especial

À Doutora **Mariana Gobbo Braz**

Minha orientadora, por tudo que me proporcionou a partir do momento em que me recebeu, acreditando apenas na minha vontade em fazer pesquisa.

Obrigada pela confiança, ensinamentos e paciência.

*“Transmitir conhecimento não é apenas falar o que sabe,
mas inspirar novas atitudes”.*

Juliano Kimura

Agradecimento Especial

Aos **médicos residentes**

Por aceitarem participar desta pesquisa, apesar de todas as dificuldades que encontramos no decorrer. Nada seria feito se não fosse a disponibilidade e

o bom grado de vocês.

Muito obrigada a todos.

“O conhecimento nos faz responsáveis”

Che Guevara

Agradecimentos

A Deus por me dar força e coragem para a conclusão deste trabalho.

A minha família que sempre fez da minha formação um orgulho, me apoiando e incentivando em todos os momentos.

A todos meus familiares e amigos que sempre estiveram presentes em todos os momentos importantes da minha vida.

A todos que trabalharam para a realização deste trabalho, especialmente à família do Laboratório GENOTOX, na Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu - FMB (UNESP).

A Juliana Rodrigues Lara que entrou na minha vida no começo da minha formação e nos desencontros cruzou meu caminho novamente no início do doutorado e fez com que toda essa jornada fosse inexplicavelmente mais leve, divertida e ao mesmo tempo de muito aprendizado. Obrigada por tudo que fez por mim e por este projeto. Você é uma pessoa extraordinária e sou muito feliz em fazer parte da sua vida.

A Flávia Ribeiro Nogueira, minha amiga e comadre, só tenho a agradecer a Deus o nosso encontro nessa vida. Sempre serei grata aos laços criados em nossa amizade. Obrigada por todos os ensinamentos, por inúmeros momentos de ajudas, conselhos e acima de tudo parceria. Da faculdade para a vida.

A Mariane Aparecida Pereira Silva, uma amiga querida para todas as horas. Obrigada por toda atenção, ajuda, amizade e gargalhadas.

A Drielle Baptista dos Santos Figueiredo que faz parte da minha vida desde a faculdade, minha amiga e comadre obrigada por todos os momentos, disponibilidade e conversas.

A Kátina Meneghetti de Souza, que me recebeu de braços abertos tornando-se uma amiga querida. Obrigada por toda instrução, risadas e orações para realização deste projeto.

A Vickeline Namba Androcioli, uma grande amiga, obrigada por tudo que você me ensinou, por incansáveis conselhos e por toda ajuda e paciência que dispensou a mim e a este projeto.

A todos os funcionários da UNIPEX da FMB-UNESP que contribuíram para a realização deste projeto, especialmente à Camila Renata Corrêa, Maria Regina Moretto, Silvia Regina de Toledo Estevan e Leandro Alves dos Santos, pelos ensinamentos técnicos e assistência inigualável.

Ao Prof. Associado Leandro Gobbo Braz, que assim como minha orientadora, me recebeu de braços abertos no Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da FMB-UNESP acreditando no meu potencial e disponibilizando seu tempo sempre que necessário.

Ao Prof. Emérito José Reinaldo Cerqueira Braz, por acreditar na contribuição multidisciplinar do processo científico e por nos contagiar com sua serenidade e educação.

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da FMB-UNESP pelo empenho na formação de melhores profissionais e atenção sempre de bom grado.

A secretária do Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), Tatiane de Fátima Pineiz Biondo, pela disponibilidade, paciência, simpatia, animação, orientações nos processos pertencentes ao programa e acima de tudo pela amizade criada nestes seis anos de convivência. Tatinha você é uma pessoa de luz e fez muita diferença neste meu caminho.

A Neli Aparecida Pavan, amiga e funcionária da secretaria do Departamento de Anestesiologia, da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) e ao guerreiro André Renato Passaroni, funcionário do serviço de computação do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), por toda ajuda administrativa e também por cada momento acolhedor e de incentivo.

A Prof^a Titular Yara Marcondes Machado Castiglia, do Departamento de Anestesiologia e ao Prof. Dr Marcone Lima Sobreira, do Departamento de Cirurgia e Ortopedia, ambos da FMB-UNESP e supervisores dos Programas de Residência Médica em Anestesiologia e Cirurgia Geral, respectivamente, que de maneira singular apoiaram e incentivaram a participação de todos os residentes envolvidos neste projeto.

A Dr^a Débora Cristina Damasceno, do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da FMB-UNESP, e suas alunas Aline Belut e Yuri Sinzato, por toda atenção e colaboração que dispensaram a este projeto de forma extraordinária.

A Prof^a Dr^a Lídia Raquel de Carvalho, do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências de Botucatu - IBB (UNESP), pela excelência nas instruções e auxílio na execução do processo de análise estatística.

Aos funcionários da Biblioteca do Campus de Botucatu da UNESP, Rinaldo Jose Ortiz pela revisão das referências e Rosemeire Aparecida Vicente pela confecção da ficha catalográfica.

Às agências de fomento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (processo nº 446252/2014-0) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (processo nº2018/20143-4) pelos auxílios concedidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida.

Aos alunos Youssef Said Abu Lawi, bolsista de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq), Lucas Kowalewski Carvalho, aluno do Ensino Médio bolsista PIBIC Junior e Júlia Lisboa Guedes, bolsista de Iniciação Científica (FAPESP), que participaram desse projeto com dedicação, apresentaram parte da pesquisa e conquistaram, respectivamente, 2º melhor trabalho dentre todos apresentados pela Faculdade de Medicina de Botucatu no XXX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 1º lugar na categoria PIBIC Ensino Médio dentre todos os trabalhos apresentados das unidades do câmpus de Botucatu no XXXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP e I Prêmio Prof. Augusto Cezar Montelli (1º lugar na categoria "Ciências Aplicada à Saúde") no XXVIII Congresso Médico Acadêmico de Botucatu.

Epígrafe

“Porque, onde estiver o vosso tesouro, ali estará também o vosso coração”.

Lucas 12:34

Sumário

Dedicatória.....	ii
Agradecimento especial.....	iii
Agradecimentos.....	v
Epígrafe.....	ix
Resumo.....	xii
<i>Abstract</i>.....	xiv
Lista de figura.....	xvi
Lista de tabelas.....	xvii
1. Introdução.....	16
1.1 Poluição anestésica.....	16
1.1.1 <i>Indoor</i>.....	16
1.1.2 <i>Outdoor</i>.....	18
1.2 Exposição ocupacional aos resíduos de gases anestésicos.....	19
1.3 Avaliação de estresse oxidativo frente à exposição ocupacional anestésica.....	20
1.4 Exposição ocupacional aos anestésicos e avaliação toxicogenética.....	23
1.5 Exposição ocupacional anestésica e avaliações bioquímica e neuroendócrina.....	26
1.6 Justificativa do estudo.....	28
2. Objetivo.....	30
3. Métodos.....	31
3.1 Aprovação ética e delineamento do estudo.....	31
3.2 Mensuração das concentrações de resíduos de gases anestésicos para avaliação da exposição ocupacional.....	32
3.3 Coletas de material biológico e processamento das amostras.....	32
3.4 Testes de estresse oxidativo.....	34
3.4.1 Peroxidação lipídica.....	34
3.4.2 Oxidação proteica.....	34
3.4.3 Capacidade antioxidante.....	36

3.4.4 Enzimas antioxidantes.....	37
3.4.5 Danos basais e oxidativos no DNA.....	37
3.5 Expressão gênica.....	39
3.6 Avaliação celular e bioquímica.....	40
3.7 Avaliação neuroendócrina.....	41
3.8 Análise estatística.....	41
4. Resultados.....	43
5. Discussão.....	56
6. Conclusão.....	68
7. Referências.....	69
Anexo A - Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa.....	82
Anexo B - Aprovação de Mudança de Título pelo Comitê de Ética em Pesquisa.....	83
Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	84
Apêndice B - Questionário.....	86

Resumo

Aun AG. **Exposição ocupacional anestésica durante a residência médica - impacto no estresse oxidativo e nas avaliações toxicogenética, bioquímica e neuroendócrina: estudo longitudinal [Tese]**. Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista - UNESP; 2021. 110 f.

Para melhor compreensão da relação causa-efeito de possíveis efeitos tóxicos da exposição ocupacional aos resíduos de gases anestésicos (RGA), este estudo longitudinal foi realizado em médicos ocupacionalmente expostos aos mais modernos RGA halogenados (isoflurano, sevoflurano e desflurano) além do gás óxido nitroso durante o período de especialização. Trata-se de estudo pioneiro que monitorou as concentrações de RGA em salas operatórias e avaliou o impacto dessa exposição no estresse oxidativo, nas avaliações toxicogenéticas (danos no DNA e expressão de transcritos), bioquímicas e neuroendócrinas. Assim, os participantes foram avaliados antes do início da residência médica (antes da exposição aos RGA), após seis meses, um ano, um ano e meio, dois anos e dois anos e meio de exposição. O monitoramento anestésico foi realizado por espectrofotometria infravermelha, e as amostras biológicas foram analisadas quanto à peroxidação lipídica, oxidação proteica, dano basal e oxidativo no DNA, enzimas antioxidantes e capacidade antioxidante, expressão de alguns genes-chave, contagem leucocitária, enzimas hepáticas e resposta neuroendócrina. Os resultados mostraram que as concentrações de RGA estavam bem acima da recomendação internacional e houve indução de oxidação proteica, peroxidação lipídica, danos no DNA, alteração das atividades de glutathione peroxidase e superóxido dismutase, alteração da expressão de *NRF2*, *HO1* e *OGG1* e leves oscilações, sendo a maioria dos resultados dentro dos limites de normalidade, para contagem leucocitária, enzimas hepáticas e hormônios, ao longo dos momentos em relação ao momento controle. Em conclusão, nossos achados mostraram que a alta exposição aos RGA no ambiente de trabalho sem adequado sistema de exaustão leva ao estresse oxidativo, genotoxicidade e modulação de

transcritos em jovens médicos durante o período de residência médica. Portanto, jovens profissionais, em início de carreira, já apresentam alterações moleculares. Assim, por se tratar de importante questão ocupacional, é necessário mitigar a poluição anestésica no ambiente de trabalho para reduzir a exposição ocupacional com o intuito de se minimizar o impacto da toxicidade anestésica.

Palavras-chave: exposição ocupacional; anestésicos inalatórios; residência médica; estresse oxidativo; dano no DNA; expressão gênica.

Abstract

Aun AG. **Occupational anesthetic exposure during medical residency - impact on oxidative stress and on toxicogenetic, biochemical and neuroendocrine assessments: a longitudinal study [PhD thesis]**. Botucatu: Botucatu Medical School, São Paulo State University - UNESP; 2021. 110 p.

To better understand the cause-effect of possible toxic effects of occupational exposure to waste anesthetic gases (WAG), this longitudinal study was carried out on physicians occupationally exposed to the most modern halogenated (isoflurane, sevoflurane e desflurane) WAG in addition to nitrous oxide gas during their specialization period. This is a pioneer study that monitored WAG concentrations in operating rooms and evaluated the impact of this exposure on oxidative stress, toxicogenetics (DNA damage and transcript expression), biochemical and neuroendocrine biomarkers. Thus, participants were evaluated before the beginning of medical residency (before exposure to WAG), after six months, one year, one and a half years, two years and two and a half years of exposure. Anesthetic monitoring was performed by infrared spectrophotometry, and biological samples were analyzed for lipid peroxidation, protein oxidation, basal and oxidative DNA damage, antioxidant enzymes and antioxidant capacity, expression of some key genes, leukocyte count, liver enzymes and neuroendocrine response. The results showed that WAG concentrations were high above the international recommendation and there was induction of protein oxidation, lipid peroxidation, DNA damage, alteration of glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities, and changes in *NRF2*, *HO1* and *OGG1* expressions, and slight oscillations, with most of the results within normal range, for leukocyte count, liver enzymes and hormones along the time points compared to the baseline. In conclusion, our findings showed that high exposure to WAG in the workplace lacking adequate scavenging system leads to oxidative stress, genotoxicity and transcript modulation in young physicians during the medical residency. Therefore, young professionals, at

the beginning of their careers, already present molecular alterations. Thus, considering that this is an important occupational issue, it is necessary to mitigate anesthetic pollution in the work environment to reduce occupational exposure minimizing the impact of anesthetic toxicity.

Keywords: occupational exposure; inhalation anesthetics; medical residency; oxidative stress; DNA damage; gene expression.

Lista de Figura

Figura 1 - Esquema representando as etapas do teste do cometa. ENDO III = endonuclease III, FPG = formamidopirimidina DNA glicosilase.....	39
---	----

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características demográficas e antropométricas, no momento inicial do estudo, dos médicos residentes.....	43
Tabela 2 - Marcadores de oxidação lipídica e proteica de médicos residentes nos momentos avaliados.....	44
Tabela 3 - Avaliação das enzimas antioxidantes e capacidade antioxidante em médicos residentes nos momentos avaliados.....	46
Tabela 4 - Danos basais e oxidativos nas bases do DNA (<i>tail intensity</i>) avaliados pelo teste do cometa em médicos residentes nos momentos avaliados.....	48
Tabela 5 - Expressão relativa de genes relacionados a efeitos antioxidantes (<i>NRF2</i> e <i>HO1</i>) e reparo de danos oxidativos no DNA (<i>OGGI</i>) nos médicos residentes durante três momentos avaliados.....	49
Tabela 6 - Contagem de leucócitos dos médicos residentes nos momentos avaliados.....	51
Tabela 7 - Mensuração, subdividida por sexo, de marcadores hepáticos dos médicos residentes nos momentos avaliados.....	53
Tabela 8 - Mensuração dos parâmetros hormonais nos médicos residentes durante os momentos avaliados.....	55

1 INTRODUÇÃO

1.1 Poluição anestésica

1.1.1 Indoor

Dentre os agentes anestésicos inalatórios mais utilizados em anestesia geral, atualmente, incluem-se os halogenados isoflurano e sevoflurano e em menor grau o desflurano. Estes anestésicos são potentes, têm baixa solubilidade em sangue e tecidos bem como levam a indução e recuperação anestésicas mais rápidas e possuem menores taxas de metabolização que os anestésicos halogenados mais antigos, como por exemplo, o halotano (Young & Apfelbaum, 1995; Wolverson & Nathanson, 1998; Prielipp, 2010; Jakobsson, 2012). Outro anestésico ainda utilizado é o gás óxido nitroso (N_2O), o qual não sofre metabolização e é rapidamente eliminado de forma inalterada pelos pulmões (Buhre et al., 2015). Trata-se de gás inodoro de rápida indução e recuperação anestésicas apresentando boa ação analgésica, mas pouca potência, tendo que ser utilizado em conjunto com outro anestésico (Duarte et al., 2012).

Os resíduos de gases anestésicos (RGA) são pequenas quantidades de anestésicos inalatórios presentes principalmente no ar ambiente das salas de operação - SO e nas salas de recuperação pós-anestésica - SRPA (NIOSH, 2007). Essas concentrações residuais de anestésicos inalatórios expõe todos os profissionais que trabalham em centro cirúrgico (Aragonés et al., 2016).

É evidente que a exposição aos RGA depende dos métodos e organização do ambiente de trabalho, como a utilização ou não de anestésicos inalatórios, do anestésico utilizado, frequência de uso de anestesia inalatória em anestesia geral, das concentrações empregadas de anestésicos, de menores ou maiores fluxos de gases frescos que propiciam respectivamente, menor ou maior escape de gases do circuito respiratório, da existência de sistema de exaustão da SO, além do tipo de equipamento/aparelho de anestesia utilizado (Wiesner et al., 2001). Algumas causas de contaminação das SO, por agentes anestésicos inalatórios, incluem falha no desligamento tanto da válvula que

controla o fluxo (fluxômetro) de gás quanto do vaporizador, escoamento de líquido anestésico no preenchimento do vaporizador, problemas com acoplamento da máscara facial, seja por material impróprio para uso, tamanho inadequado ou ainda por dificuldades relacionadas à via aérea do paciente, sistemas respiratórios pediátricos, além de problema na válvula e tubulação de N₂O (Oliveira, 2009; Braz et al., 2017; Deng et al., 2018; Lucio et al., 2018).

Contudo, uma das mais importantes causas de poluição anestésica *indoor* (dentro do centro cirúrgico) quanto *outdoor* (no meio ambiente) é a ausência de sistema de exaustão em SO/SRPA (Braz et al., 2017; Lucio et al., 2018), uma problemática encontrada em países em desenvolvimento, como o Brasil. Em países com regulamentação e recomendação de limite de exposição, a poluição causada pelos RGA é mitigada com implementação de sistemas de ventilação e exaustão no centro cirúrgico/laboratórios de pesquisa bem como por recomendações de detecção e redução de vazamentos (NIOSH, 2007).

As SO podem ou não ter sistema de exaustão. Quando há sistema de exaustão, ele pode ser total (quando há sucção central que retira o ar da SO por meio de pressão negativa, levando toda a corrente de ar com gás anestésico para o exterior, sem recirculação do ar) ou parcial (quando há sucção central que retira o ar da SO por meio de pressão negativa, que leva parcialmente o ar com gás anestésico para o exterior, havendo recirculação do ar). Já nas SO sem sistema de exaustão, há simplesmente a circulação natural da corrente de ar oriunda de aparelhos de ar condicionado não centrais (Briggs & Maycock, 2013). Estudo nacional pioneiro mostrou que as concentrações residuais de anestésicos halogenados excederam, em demasia, o limite internacional recomendado em SO ausentes de sistema de exaustão enquanto que em SO com sistema de exaustão parcial (com sete trocas de ar por hora, mesmo sem ser o ideal de no mínimo 15 trocas de ar por hora) houve redução da poluição anestésica, ficando mais próxima ao limite ideal (Braz et al., 2017), o que reforça a necessidade do sistema de exaustão nas SO.

1.1.2 Outdoor

A mudança climática é identificada como grande ameaça à sustentabilidade ambiental e à saúde (Landrigan et al., 2020). Em 1999, o impacto dos anestésicos inalatórios no aquecimento global foi estimado em 0,03% do aquecimento global total e, mais recentemente, em 0,6% (Langbein et al., 1999; HCWH, 2019).

Os efeitos do aquecimento global advindos de diferentes anestésicos inalatórios dependem basicamente da sua estrutura, do potencial de aquecimento global e da meia-vida atmosférica (Ishizawa, 2011), a qual é de 14 anos para o desflurano em comparação com três anos para o isoflurano e um ano para o sevoflurano. Ryan & Nielsen (2010) calcularam que o desflurano tem cerca de 26 vezes o potencial de aquecimento global do sevoflurano e 13 vezes o potencial do isoflurano. Devido à meia-vida atmosférica extremamente longa, sendo de 114 anos (Andersen et al., 2012) e aos altos volumes de consumo, o N₂O se torna um dos principais contribuintes para o aquecimento global (Gaya da Costa et al., 2021). De forma interessante, estudo recente mostrou o impacto ambiental dos anestésicos inalatórios, que pode ser alcançado comparando-se com a emissão de dióxido de carbono - CO₂ (utilizado como referência para os cálculos do potencial de aquecimento global) durante uma única viagem de automóvel (Hanna & Bryson, 2019). Os autores verificaram que o uso de anestesia inalatória por uma hora em concentração comumente utilizada e baixo fluxo de gases frescos tem a equivalência de CO₂ como uma viagem de carro de 6,5 quilômetros (km) para sevoflurano, 14 km para isoflurano, 95 km para N₂O e 320 km para desflurano.

Pela importância do tema, desde 2017, a *American Society of Anesthesiologists* (ASA) realizou uma campanha internacional para reduzir a emissão de RGA em 50% até 2020 (ASA, 2020). Portanto, os RGA podem contribuir efetivamente para o impacto ambiental; mudanças em seu uso rotineiro bem como na infraestrutura do centro cirúrgico podem reduzir tanto a poluição *indoor* quanto *outdoor* (Sherman & Berkow, 2019). De fato, é

relevante que os anestesiológicos se conscientizem sobre seu papel utilizando métodos mais sustentáveis, contribuindo para mitigação da poluição interna e ambiental, como por exemplo, evitando o uso de N₂O e desflurano, utilizando mais anestesia venosa total e baixos fluxos de gases frescos (Gaya da Costa et al., 2021).

1.2 Exposição ocupacional aos resíduos de gases anestésicos

Estima-se que muitos profissionais de saúde se encontrem sob risco ocupacional de desenvolver possíveis doenças crônicas e neurodegenerativas (OSHA, 2000; Migliore & Coppedè, 2009; Deng et al., 2018). Entre os profissionais que estão expostos ocupacionalmente aos RGA estão os anestesiológicos (médicos e veterinários), cirurgiões (médicos e veterinários), enfermeiros, auxiliares, técnicos além dos profissionais de limpeza que atuam no centro cirúrgico e eventualmente os dentistas, quando utilizam o N₂O, além dos pesquisadores que trabalham com anestésicos inalatórios em laboratórios. Um estudo de coorte realizado de 1979 a 1995 em anestesiológicos nos EUA, comparados a médicos clínicos, mostrou risco aumentado de morte por suicídio, overdose de drogas e doença cerebrovascular e risco moderado para doenças hepáticas e respiratórias, leucemia e câncer pancreático (Alexander et al., 2000). Adicionalmente, a exposição aos RGA é importante fator de risco para ocorrência de parto prematuro e aborto espontâneo em médicas veterinárias atuantes em SO sem sistema de exaustão (Shirangi et al., 2008; Shirangi et al., 2009); estudo indiano mostrou que mulheres anestesiológicas e esposas de anestesiológicos têm maior risco de ocorrência de aborto que a população em geral (Nagella et al., 2015).

Diferentemente do que ocorre com os pacientes que são expostos a altas concentrações anestésicas, mas de forma aguda, quando submetidos ao ato anestésico-cirúrgico, os profissionais são expostos a concentrações anestésicas residuais, entretanto essa exposição ocorre por muitos anos/décadas. Embora haja grande diferença em termos de concentração e

duração da exposição, todos esses indivíduos estão sujeitos ao potencial risco relacionado à exposição aos RGA.

No Brasil, infelizmente, assim como em diversos países menos desenvolvidos economicamente, não existem recomendações de valores limites aos anestésicos utilizados em centro cirúrgico, de monitorização e/ou fiscalização (Oliveira, 2009). Diferentemente, o instituto americano *National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOSH, 1992) sugere, para minimizar a exposição ocupacional, até duas partes por milhão (ppm) para os anestésicos halogenados e até 25 ppm para o N₂O, sendo esses valores reconhecidos/acatados internacionalmente.

Assim, a possibilidade de riscos à saúde relacionados à exposição aos RGA tem sido muito discutida nas últimas décadas (Tankó et al., 2014) e o biomonitoramento humano tem sido empregado como instrumento útil na identificação e quantificação de risco com relação às exposições que conferem riscos à saúde. Sua aplicação tem sido utilizada especialmente na exposição ocupacional, como no caso dos RGA (Chinelato & Froes, 2002).

Em nosso país, infelizmente, essa temática é negligenciada e pouco estudada, sendo o nosso grupo de pesquisa o único no Brasil que tem avaliado os possíveis efeitos sistêmicos e moleculares da exposição ocupacional aos RGA em profissionais que atuam em centro cirúrgico.

1.3 Avaliação de estresse oxidativo frente à exposição ocupacional anestésica

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) é parte integrante do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas. As ERO têm importante função biológica, como na fagocitose, fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor (Vasconcelos et al., 2007). Por outro lado, quando sua produção é exacerbada, pode ser prejudicial ao organismo. O estresse oxidativo é evento decorrente do desequilíbrio entre a magnitude de formação dos radicais livres e ERO e a capacidade de defesa antioxidante (Schafer & Buettner, 2001). Assim, a

manutenção do equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes é importante para evitar o estresse oxidativo (Halliwell, 2012).

As membranas celulares, bem como as membranas de organelas, constituem importante alvo de atuação de ERO, pois apresentam estrutura bilipídica e uma variedade de proteínas e açúcares (Barreiros et al., 2006). O dano celular resulta basicamente de ataque de ERO nas macromoléculas, incluindo o ácido desoxirribonucleico (DNA), no qual ocorrem quebras na cadeia, ligação cruzada entre fitas e modificações em suas bases, que podem levar a mutação e apoptose; as proteínas, que possuem muitos sítios reativos, e pode ocorrer ligação peptídica com fragmentação das cadeias e oxidação de quase todos os tipos de aminoácidos, com produção frequente de compostos carbonilados; e os lipídios, os quais sofrem peroxidação (conhecida como lipoperoxidação) pelo ataque de ERO (geralmente radical hidroxila), podendo causar mudanças nas propriedades físicas e químicas da membrana, alterando sua fluidez e permeabilidade, com expansão do líquido intracelular e riscos de ruptura das membranas da célula e das organelas, com consequente morte celular (Vasconcelos et al., 2007).

Outra importante vertente para análise do estresse oxidativo é pela avaliação de antioxidantes, os quais são capazes de neutralizar os radicais livres e ERO, inibindo ou retardando sua ação (Soares, 2002). Pode-se classificar os antioxidantes em enzimáticos, que são produzidos de forma endógena, destacando-se a glutathione peroxidase (GSH-Px), a superóxido dismutase (SOD) e a catalase, e os não enzimáticos, que podem ser lipossolúveis (tocoferóis, carotenos, flavanoides, etc.) ou hidrossolúveis (ácido ascórbico, ácido úrico, albumina, dentre outros), sendo possível mensurar esses antioxidantes individualmente ou pela capacidade antioxidante, a qual considera a ação acumulativa de todos os antioxidantes (Ghiselli et al., 2000).

Acredita-se que os anestésicos inalatórios, incluindo os halogenados e N₂O, possam gerar estresse oxidativo (Jaloszynski et al., 1999), o que tem contribuído para estudos nessa área em relação à exposição ocupacional aos

RGA (Wrońska-Nofer et al., 2009; Al-Rasheedi et al., 2021; Hua et al., 2021). Estudos do tipo transversais têm mostrado controvérsias em relação à capacidade antioxidante, seja por mensuração individual ou total, nos profissionais expostos ocupacionalmente aos RGA quando comparados a grupo sem exposição - controle (Malekirad et al., 2005; Türkan et al., 2005; Wrońska-Nofer et al., 2009; Izdes et al., 2010; Jafari et al., 2018; Braz et al., 2020; Souza et al., 2021). Destaca-se que alguns estudos da literatura que detectaram marcadores de estresse oxidativo avaliaram mistura de anestésicos halogenados modernos e antigos enquanto outros somente avaliaram os mais modernos, com ou sem N₂O (Baysal et al., 2009; Wrońska-Nofer et al., 2012; Costa Paes et al., 2014; Cegin et al., 2016; Hua et al., 2021; Souza et al., 2021), em SO sem sistema de exaustão (Malekirad et al., 2005; Baysal et al., 2009; Izdes et al., 2010; Costa Paes et al., 2014) e com sistema de exaustão (Türkan et al., 2005; Cegin et al., 2016; Al-Rasheedi et al., 2021; Hua et al., 2021) e com mensurações dos RGA (Neghab et al., 2020a; Hua et al., 2021; Souza et al., 2021) e sem mensuração dos RGA (Türkan et al., 2005; Baysal et al., 2009; Costa Paes et al., 2014).

Em relação aos marcadores oxidativos em profissionais expostos, de forma ocupacional aos RGA, a peroxidação lipídica é descrita em estudos transversais que detectaram aumento de malondialdeído - MDA (Neghab et al., 2020a) e de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS (Wrońska-Nofer et al., 2012) em profissionais expostos. Em contrapartida, estudo transversal no qual a exposição aos RGA encontrava-se acima dos limites recomendados não evidenciou diferença no nível de MDA nos profissionais expostos quando comparados ao grupo controle (Souza et al., 2021). Diferentemente, a literatura é escassa quanto à detecção de oxidação proteica; há somente um estudo transversal realizado em profissionais expostos por três anos aos RGA, no qual o conteúdo de proteínas carboniladas foi semelhante ao grupo controle (Braz et al., 2020).

Pouco se sabe a respeito do possível papel do estresse oxidativo avaliado em médicos durante o período de especialização (residência médica),

os quais são expostos aos RGA no centro cirúrgico. De fato, na literatura, há apenas dois estudos nacionais que abordaram esta temática e demonstraram resultados controversos (Costa Paes et al., 2014; Braz et al., 2020). Ressalte-se que os estudos anteriormente citados tinham delineamentos diferentes, foram realizados em locais diferentes e com populações distintas, com diferentes sistemas de exaustão de SO, sendo que em somente um estudo foi realizada mensuração da poluição anestésica no ambiente de trabalho.

Alguns autores observaram associação entre a exposição aos RGA mais utilizados atualmente (halogenados e N₂O) com estresse oxidativo (Wrońska-Nofer et al. 2012; Neghab et al., 2020a) e essa associação pode estar relacionada aos danos genéticos encontrados nesses profissionais expostos.

1.4 Exposição ocupacional aos anestésicos e avaliação toxicogénica

A genotoxicidade é a capacidade que algumas substâncias possuem de induzir alterações no material genético de organismos a elas expostos (Kolling et al., 2006). Sugere-se que os anestésicos halogenados podem ser genotóxicos por reagirem diretamente com a molécula de DNA ou pela formação de compostos reativos ou, ainda, liberando ERO (Jaloszyński et al., 1999), que induzem vários tipos de lesões no material genético. Adicionalmente, acredita-se que os anestésicos halogenados, como o halotano, podem atuar como agentes S-independentes (como as drogas radiomiméticas), ou seja, produzem alterações em todas as fases do ciclo celular (Chinelato & Froes, 2002).

Já a toxicidade do N₂O é baseada em sua interação com a vitamina B12; o N₂O pode inativar a metionina sintase por meio da oxidação do cobalto na vitamina B12, o que pode levar ao aumento da homocisteína, a qual é tóxica; ressalta-se que a formação de metionina é essencial para o metabolismo da vitamina B12 e do folato e desempenha papel relevante na síntese de DNA, ácido ribonucleico (RNA) e bainha de mielina (Sanders et al., 2008).

A genotoxicidade dos RGA tem sido objeto de debate na comunidade científica, pois alguns estudos transversais demonstraram que a exposição

ocupacional anestésica está associada aos danos no DNA detectados pelo teste do cometa (Baysal et al., 2009; Wrońska-Nofer et al., 2012; El-Ebiary et al., 2013; Costa Paes et al., 2014; Braz et al., 2020) enquanto outros autores não verificaram associação com genotoxicidade utilizando o mesmo método, quando avaliado em células de sangue periférico (Szyfter et al., 2016; Souza et al., 2016; Aun et al., 2018). As possíveis hipóteses dos controversos achados podem ser resultantes do tipo do(s) anestésico(s) inalatório(s) utilizado(s) (mais antigo ou mais moderno), pelo tempo de exposição ocupacional, pela presença ou ausência de sistema adequado de exaustão de gases das SO e das concentrações residuais anestésicas nas SO (se estavam dentro ou acima do limite recomendado). Adicionalmente, há somente escassos estudos sobre avaliação de bases oxidadas do DNA, utilizando-se o teste do cometa, comparando profissionais expostos aos RGA em relação a grupo não exposto (Wrońska-Nofer et al., 2012; Braz et al., 2020; Souza et al., 2021). Por outro lado, a instabilidade genética, avaliada por detecção de micronúcleos em mucosa bucal, em profissionais ocupacionalmente expostos aos RGA, já foi detectada (Chandrasekhar et al., 2006; Souza et al., 2016; Çakmak et al., 2019).

A maioria dos estudos existentes na literatura mostra que médicos residentes atuantes em centro cirúrgico tiveram aumento de danos genéticos avaliados em células de sangue periférico ou em mucosa bucal quando comparados a um grupo controle (Costa Paes et al., 2014; Braz et al., 2018; Braz et al., 2020). Por outro lado, não há, na literatura ao nosso alcance, estudo de genotoxicidade realizado durante todo o período de especialização em jovens médicos expostos ocupacionalmente aos RGA. Ressalte-se, adicionalmente, que ainda não foram monitorados possíveis danos oxidativos no DNA em médicos ao longo do período da residência. Assim, o biomonitoramento neste grupo pode auxiliar na elucidação dos possíveis mecanismos envolvidos dos RGA.

A toxicogenômica é definida pela integração da genômica e da toxicologia, avaliando como o genoma está envolvido nas respostas a

estressores e tóxicos ambientais para melhor compreender o papel das interações gene-ambiente (Gomase & Tagore, 2008). Adicionalmente à genotoxicidade, sabe-se que vários agentes podem influenciar a expressão de genes (Iyama & Wilson, 2013). Segundo McCord (2000), as ERO podem regular a expressão gênica; contudo, ainda não se sabe se a exposição ocupacional aos RGA pode interferir na transcrição de genes-chave, incluindo genes de resposta oxidativa/antioxidante e danos oxidativos em adultos jovens no período da especialização médica, o que certamente contribuirá ao avanço do conhecimento nessa área.

Um dos mecanismos de defesa celular contra o estresse é pela ativação da via de resposta antioxidante por meio de *nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2)* que ativa genes codificantes de proteínas antioxidantes. Assim, o gene *NRF2* é um regulador da resistência celular aos agentes oxidantes que controla a expressão basal e induzida de uma matriz de genes dependentes de elementos de resposta antioxidante (Ma, 2013). Portanto, o *NRF2* é um gene fundamental para regulação da homeostase celular, atuando em uma grande rede de enzimas antioxidantes, no reparo e remoção de proteínas danificadas além de inibir a inflamação e outros fatores de transcrição (Holmström et al., 2016), modulando a expressão de genes antioxidantes e desintoxicantes (Gan & Johnson, 2014).

Outro gene importante para o funcionamento celular é a heme oxigenase-1 (*HO1*). Seus produtos têm efeitos citoprotetores importantes, por meio de atividade antioxidante, anti-inflamatória e anti-apoptótica (Soares & Bach, 2009). O aumento proteico de *HO1* é considerado indicador da resposta adaptativa ao estresse oxidativo (Choi et al., 2015). Um estudo que avaliou a expressão de *HO1* em tecido hepático de ratos expostos aos anestésicos mostrou que o desflurano não alterou a expressão desse gene, enquanto que isoflurano e sevoflurano induziram a expressão gênica (Hoetzel et al., 2002).

As lesões no DNA, especialmente as oxidativas, são reparadas principalmente pelo sistema de reparo de excisão de bases (*BER*), o qual é encarregado pelo reparo de importantes proteínas codificadas pelos genes

human 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 - OGG1 e *X-ray cross-complementing group 1 protein - XRCC1* (Collins & Gaivão, 2007; Zaha et al., 2014). O mecanismo do reparo do tipo *BER* permite a remoção de um certo número de lesões do DNA, especialmente as modificações de bases, assim como sítios abásicos e quebras de fita de DNA (Wilson & Bohr, 2007). Trabalho realizado em pacientes submetidos à cirurgia minimamente invasiva sob isoflurano mostrou menor expressão do gene *OGG1* 24 horas após a exposição anestésica quando comparado ao momento basal e intraoperatório, sugerindo alteração da expressão desse importante gene após exposição à anestesia inalatória (Braz et al., 2011).

Considerando que a literatura é bastante escassa em relação à análise transcricional de genes frente à exposição ocupacional aos RGA (Souza et al., 2021), a avaliação da expressão dos genes *NRF2*, *HO1* e *OGG1* pode fornecer informações sobre a possível modulação gênica em jovens profissionais expostos aos RGA ao longo do período de residência médica.

1.5 Exposição ocupacional anestésica e avaliações bioquímica e neuroendócrina

Apesar da baixa solubilidade e eliminação rápida, os principais anestésicos voláteis podem ser degradados em produtos potencialmente tóxicos (Obata et al., 2000). Ressalte-se que os anestésicos inalatórios são metabolizados no fígado, mas também nos pulmões e nos rins. No tecido hepático, os anestésicos halogenados sofrem metabolismo oxidativo pelas enzimas do citocromo P450, resultando em íons fluoreto e metabólito ácido trifluoroacético, com exceção do sevoflurano, cujo metabólito é o hexafluoroisopropanol (Soubhia et al., 2011).

A disfunção hepática, caracterizada por aumento transitório nos níveis de algumas enzimas como alanina-aminotransferase (ALT), aspartato-aminotransferase (AST), gamaglutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (ALKP) foi descrita em profissionais atuantes em SO e expostos de forma crônica para os anestésicos halogenados mais antigos, os quais tinham maior

taxa de metabolização e produziam mais metabólitos tóxicos (Burm, 2003, Nilsson et al., 2005). De fato, alterações hepáticas também foram descritas em profissionais expostos ocupacionalmente ao halotano, enflurano e isoflurano, além do N₂O (Casale et al., 2014). Caciari et al. (2013) observaram que a exposição a baixas concentrações de RGA também pode alterar os parâmetros hepáticos em trabalhadores de saúde. Estudo recente demonstrou que profissionais cronicamente expostos ao isoflurano, sevoflurano e N₂O apresentaram aumento estatístico das enzimas hepáticas quando comparados ao grupo controle; contudo, os valores de ambos os grupos estavam dentro da faixa de normalidade (Neghab et al. 2020b). Assim, ainda não se sabe se podem ocorrer alterações bioquímicas hepáticas também frente à exposição aos anestésicos halogenados mais modernos, juntamente ao N₂O e com menor tempo de exposição.

Casale et al. (2014) mostraram, além do aumento das principais enzimas hepáticas, alterações hematológicas, como aumento de linfócitos e diminuição de neutrófilos, em diferentes profissionais expostos cronicamente aos RGA (antigo halotano e enflurano, além de N₂O e isoflurano), quando comparados a um grupo não exposto. Caciari et al. (2013) observaram que a exposição aos RGA também pode alterar os parâmetros hematológicos em profissionais atuantes em SO. Por outro lado, ainda não se sabe se essas alterações hematológicas também podem ocorrer com menor tempo de exposição ocupacional aos RGA.

Adicionalmente às enzimas hepáticas, a proteína hepática C reativa (PCR) é considerada marcador de lesão tecidual e mediador inflamatório da resposta imune (Garcia et al., 2002). O aumento do nível de PCR está relacionado ao concomitante aumento da concentração de citocinas (Kurosawa & Kato, 2008), importantes na sinalização da resposta inflamatória. Durante essa resposta, outros mediadores, como o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e o cortisol, são liberados pelo eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). Desta forma, a resposta inflamatória é caracterizada pela produção de proteínas, células imunológicas e hormônios. Kurosawa &

Kato (2008) observaram que a anestesia geral acompanhada de estresse cirúrgico suprime a imunidade por afetar diretamente o sistema imunológico e/ou pela ativação do eixo HPA e do sistema nervoso simpático.

Em relação à resposta endócrina, sabe-se que os corticosteroides são hormônios secretados pela região cortical das glândulas supra-renais e os glicocorticoides são produzidos pela zona fasciculada e estão envolvidos em diversas funções fisiológicas e também na adaptação a situações de estresse (Kapugi & Cunningham, 2019). O cortisol ou hidrocortisona é o principal glicocorticoide natural circulante no ser humano e sua síntese é regulada pelo ACTH, secretado pela hipófise anterior, em resposta à liberação pelo hipotálamo (Anti et al., 2008). Já a prolactina é um hormônio proteico cuja secreção aumenta em resposta ao estresse e ao ato cirúrgico (Desborough, 2000).

Há alguns estudos, não muito recentes, que verificaram controvérsias em relação às possíveis alterações comportamentais e no sistema neuroendócrino em profissionais expostos aos RGA (Lucchini et al., 1996; Lucchini et al., 1997; Isolani et al., 1999; Scapellato et al., 2008). De forma interessante, Eisenach et al. (2014) realizaram estudo piloto prospectivo do tipo coorte, com avaliação anterior e durante os primeiros meses de residência em anestesiologia, utilizando diversos marcadores. Os autores, apesar de não terem realizado análise estatística devido ao pequeno tamanho amostral, observaram pequenas oscilações em cortisol, adrenalina, noradrenalina e interleucina pró-inflamatória (IL-6), sugerindo alterações no eixo HPA e sistema simpático-imunológico, e enfatizaram a necessidade de realização de estudos nessa temática em médicos residentes.

1.6 Justificativa do estudo

Diversos profissionais ao redor do mundo são expostos ocupacionalmente aos RGA, sendo relevante entender o impacto desta

exposição. Adicionalmente, ressalta-se a ausência de regulamentação da exposição ocupacional aos RGA em nosso país. Dessa forma, é fundamental a avaliação dos possíveis riscos a que estão sujeitos os profissionais expostos, para conscientização e possíveis melhorias no ambiente de trabalho.

Deve-se enfatizar que a maioria dos estudos disponíveis na literatura até o momento sobre profissionais expostos aos RGA em relação aos marcadores de interesse foram delineados como transversais (grupo exposto *versus* grupo controle) e, portanto, são limitados na avaliação de possível associação, e não à relação causa-efeito (estudos de coorte) entre a exposição aos RGA e possível toxicidade. Atualmente não há evidências suficientes de uma ligação causal entre a exposição ocupacional anestésica e efeitos adversos (Magnavita et al., 2020). De acordo com Neghab et al. (2020a), estudos prospectivos de coorte (ou longitudinais/*follow-up*) neste campo de pesquisa devem ser incentivados.

Os residentes são uma categoria especial de médicos cujo bem-estar e saúde ocupacional são de grande preocupação em todo o mundo (Eisenach et al., 2014; Kassam et al., 2015) e o biomonitoramento humano é ferramenta valiosa para avaliar os possíveis efeitos que esta exposição pode acarretar.

Assim, a hipótese do estudo é que, durante a especialização, jovens médicos que atuam em SO sem adequado sistema de exaustão estão expostos a elevadas concentrações residuais anestésicas, com possibilidade de apresentarem alterações moleculares e sistêmicas.

2 OBJETIVO

Considerando a relevância do tema, de forma inédita, o presente estudo longitudinal teve como objetivo monitorar as concentrações residuais anestésicas e as possíveis alterações causadas pela exposição ocupacional aos RGA em médicos durante o período de especialização utilizando-se biomarcadores de estresse oxidativo e toxicogenéticos (objetivos primários), bioquímicos e neuroendócrinos (objetivos secundários) para melhor compreender os possíveis efeitos deletérios/tóxicos da exposição ocupacional aos RGA isoflurano, sevoflurano, desflurano e N₂O em centro cirúrgico com sistema parcial de exaustão, a fim de se contribuir para o avanço científico nessa área.

3 MÉTODOS

3.1 Aprovação ética e delineamento do estudo

Este estudo longitudinal prospectivo foi realizado no Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), na Universidade Estadual Paulista (UNESP) após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa - CEP da FMB-UNESP (nº 2.261.832; CAAE 40494115.6.0000.5411 - Anexo A e nº 4.404.099; CAAE 40494115.6.0000.5411 - Anexo B). Para a pesquisa, 26 médicos de ambos os sexos atuantes no centro cirúrgico do HCFMB-UNESP (anestesiologia e área cirúrgica incluindo cirurgia geral, ortopedia e neurocirurgia) foram recrutados e acompanhados, em seis momentos, ao longo da residência médica: antes do ingresso nas respectivas residências médicas (antes da exposição) e após seis meses, um ano, um ano e meio, dois anos e dois anos e meio de exposição ocupacional aos RGA. Os médicos residentes foram seus próprios controles e estavam ocupacionalmente expostos especialmente aos resíduos de isoflurano e sevoflurano, e em menor grau ao desflurano e N₂O.

Todos os médicos residentes participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) e responderam a um questionário detalhado (Apêndice B) antes do início do estudo e antes de cada coleta de amostra biológica. Os critérios de exclusão incluíram gestantes, tabagistas, indivíduos com doenças malignas, infecciosas ou inflamatórias, os que faziam uso de remédios, suplementos vitamínicos/antioxidantes ou drogas ilícitas, consumo pesado de álcool (acima de nove doses semanais para mulheres e acima de 14 doses semanais para homem, sem episódios de embriaguez - *NIAAA*, 2015) ou os que fizeram residência médica prévia em alguma área com exposição ocupacional (ex. anestésicos e radiação).

3.2 Mensuração das concentrações de resíduos de gases anestésicos para avaliação da exposição ocupacional

Todos os médicos residentes participantes atuavam em todas as SO do HCFMB-UNESP, o qual é um hospital público terciário com centro cirúrgico composto por 13 SO, com diferentes áreas (23,5 m² - 40,2 m²). Seis SO possuem um aparelho de ar condicionado em cada sala (portanto sem sistema de exaustão de gases) e sete SO possuem ar condicionado central com sistema de exaustão de gases, sendo que nessas salas a circulação de ar é feita somente com 25% de ar novo (ambiente externo), o que leva de 6 a 8 trocas de ar/hora. Adicionalmente, o fluxo de ar no centro cirúrgico era do tipo turbulento. Assim, o sistema de exaustão de gases nas SO não é adequado, o que representa a grande maioria dos centros cirúrgicos em países em desenvolvimento.

Utilizou-se o aparelho *InfraRan 4-Gas Anesthetic Specific Vapor Analyzer* (Wilks Enterprise, EUA) para medir, em tempo real, por espectrofotometria infravermelha, as concentrações (ppm) de anestésicos inalatórios halogenados (isoflurano, sevoflurano e desflurano) e do gás N₂O em todas as SO. Antes do início de cada mensuração, o aparelho foi zerado, como recomendado pelo fabricante; as concentrações de N₂O e dos halogenados foram medidas no ar, com fluxo de amostras de 10 l/min, sempre na área de respiração do médico residente durante todos os tipos de cirurgias em pacientes de todas as idades que foram submetidos à anestesia inalatória durante o período da especialização. Assim, a média dos anestésicos halogenados e N₂O foram calculadas para se ter o conhecimento da exposição ocupacional.

3.3 Coletas de material biológico e processamento das amostras

As coletas de amostras de sangue periférico dos médicos residentes foram realizadas em seis momentos, ressaltando que antes de cada coleta foi aplicado um questionário para ver se os participantes iniciais continuavam aptos a participar do estudo. As amostras biológicas foram coletadas com oito

horas de jejum, sempre no período da manhã, entre o meio e o fim da semana e antes que os participantes entrassem de férias (30 dias) a fim de evitar possíveis vieses no estudo. As amostras de sangue venoso foram colhidas em tubos contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético - EDTA (danos no DNA e contagem celular), tubos com gel separador (estresse oxidativo, avaliação bioquímica e avaliação endócrina), tubos contendo anticoagulante heparina (avaliação do sistema antioxidante) e em tubos com estabilizador de RNA (expressão gênica).

Imediatamente após cada coleta de sangue em tubo de EDTA realizou-se contagem da série branca e o isolamento de células mononucleares (~ 95% linfócitos), seguindo o protocolo de Braz & Fávero Salvadori (2007), por gradiente de *Ficoll Paque Plus*[®] (*GE Healthcare*, Suécia), e procedeu-se imediatamente à avaliação de genotoxicidade. O plasma e o soro foram obtidos por meio de centrifugação a 4°C por 15 minutos a 3.500 rotações por minutos (rpm) e as amostras foram armazenadas em alíquotas em *freezer* - 80°C para avaliação de estresse oxidativo, hormônios e marcadores hepáticos. As amostras de sangue em tubo com heparina foram processadas seguindo protocolo das enzimas antioxidantes enquanto os tubos contendo estabilizador de RNA foram armazenados em *freezer* -80°C.

Todas as amostras foram previamente codificadas, imediatamente transportadas ao Laboratório GENOTOX (Unidade de Pesquisa Experimental - UNIPEX, FMB-UNESP) e processadas sob luz amarela para evitar a possibilidade de danos adicionais ao DNA e indução de estresse oxidativo. Todas as etapas das metodologias foram realizadas sob ar condicionado e as análises foram realizadas de maneira cega.

Para avaliação de alguns marcadores de estresse oxidativo (MDA, proteína carbonilada e capacidade antioxidante) utilizou-se *pool* de amostras conhecidas para controle de qualidade, a partir do qual se calculou o coeficiente de variação (CV). Admitiram-se valores de $CV \leq 10\%$ e para as curvas-padrão, valores de $R^2 \geq 0,99$.

3.4 Testes de estresse oxidativo

3.4.1 Peroxidação lipídica

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada com o marcador plasmático MDA, realizada pela técnica *high-performance liquid chromatography (HPLC)*, considerada *gold standard*, conforme protocolo de Nielsen et al. (1997), com pequenas modificações, de acordo com emprego de detector de fluorescência segundo Tatum et al. (1990).

De forma resumida, em tubos de vidro de hemólise foram adicionados 100 µl de plasma (em duplicata, de cada momento/participante) com 700 µl de ácido ortofosfórico 1%. As amostras foram agitadas vigorosamente e 200 µl de ácido tiobarbitúrico (42 mM) foram adicionados às amostras, que foram novamente agitadas. Os tubos foram então aquecidos a 100°C por uma hora e posteriormente resfriados por dez minutos e 200 µl foram transferidos para tubo tipo *ependorf* de 1,5 ml contendo 200 µl de hidróxido de sódio - NaOH a 2 M diluído em metanol na proporção de 1:12. Em seguida, os tubos foram centrifugados por três minutos a 13.000 rpm e volume de 200 µl de sobrenadante foi colocado em *vial* e 50 µl foram injetados no cromatógrafo *Shimadzu*, modelo LC-10AD (Japão). A fase móvel constituiu-se de tampão fosfato (1 mM de fosfato monopotássico) e metanol (60:40 vol.) com fluxo de 1,2 ml/min, utilizando-se a coluna C18 (modelo *Gemini*, *Phenomenex*, EUA) em fase reversa (5 µm, 150 x 4,6 mm) com detector de fluorescência (modelo RF535, *Shimadzu*, Japão) com excitação em 525 nanômetros (nm) e emissão em 551 nm. Realizou-se então o cálculo por meio da curva-padrão utilizando-se o tetrametoxipropano.

3.4.2 Oxidação proteica

Anteriormente à avaliação de proteínas carboniladas (*OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA kit*, *Cell Biolabs*, EUA) como marcador de oxidação proteica, necessitou-se determinar a concentração de proteínas totais nas amostras séricas, pelo *bicinchoninic acid assay (BCA)*, *Thermo Fisher*

Scientific, EUA). Dessa forma, as amostras foram inicialmente diluídas em *phosphate-buffered saline (PBS)* (1x) na proporção de 1:100 e foram pipetadas 10 µl, em triplicata, em placa de 96 alvéolos. Também foram pipetados 10 µl dos *standards*, e 200 µl da mistura dos reagentes *BCA protein assay reagent A* e *BCA protein assay reagent B*, na proporção de 1:50, em toda a placa, a qual foi incubada em estufa a 37°C por 30 minutos. Após esse período, as amostras permaneceram por dez minutos em temperatura ambiente e foram, em seguida, lidas em espectrofotômetro *Synergy HT* (*Biotek*, EUA) a 562 nm.

Com os resultados obtidos, foi possível conhecer a quantidade de proteína de cada amostra, para então, realizar o teste de proteínas carboniladas, o qual exigia concentração proteica de 10 µg/ml em cada amostra. Assim, as amostras que não se encontravam nessa concentração, conforme os resultados do *BCA*, tiveram que ser ajustadas individualmente.

Em microplaca de 96 alvéolos foram adicionados 100 µl de amostra em triplicata e *standards* nos respectivos poços. Em seguida a microplaca foi incubada a 4°C *overnight*. Após esse período, a placa foi lavada três vezes com 250 µl de *PBS* (1x) e o excesso de líquido foi removido com auxílio de papel absorvente.

Volume de 100 µl de *DNP working solution* foi adicionado em cada alvéolo e a placa foi incubada em temperatura ambiente por 45 minutos em ambiente escuro. Em seguida, a placa foi novamente lavada com 250 µl de uma mistura com *PBS*/etanol (1:1) e colocada em agitador por cinco minutos. As amostras foram lavadas com 250 µl de *PBS* por duas vezes. Após, foram adicionados 200 µl de *blocking solution* em todos os alvéolos e a placa foi incubada por uma hora e 30 minutos em temperatura ambiente sobre agitador. Posteriormente, a placa foi novamente lavada por três vezes com 250 µl de 1x *wash buffer* e removeu-se o excesso de líquido. Foram adicionados então 100 µl do anticorpo *anti-DNP* diluído em todos os alvéolos e a placa foi incubada por uma hora em temperatura ambiente sobre agitador. Em seguida, realizou-se nova lavagem com 250 µl de *wash buffer*.

Após remoção do excesso de líquido, foram adicionados 100 µl do anticorpo secundário *HRP* conjugado diluído em todos os alvéolos, e a placa foi novamente incubada por uma hora. A placa foi lavada cinco vezes com o *wash buffer*, o excesso de líquido foi removido e adicionou-se volume de 100 µl do *substrate solution*. Nesse momento, as amostras foram protegidas da luz, e houve nova incubação em temperatura ambiente por aproximadamente 20 minutos sobre o agitador. A placa foi observada cuidadosamente e, após a mudança de cor consistente, 100 µl de *stop solution* foram adicionados em cada alvéolo para bloqueio da reação enzimática. A placa foi lida imediatamente em espectrofotômetro a 450 nm.

3.4.3 Capacidade antioxidante

Amostras plasmáticas, protegidas da luz, foram utilizadas para avaliação da capacidade antioxidante, seguindo-se protocolo descrito anteriormente por Aldini et al. (2001) com pequenas modificações (Braz et al., 2013). Foram adicionados, em tubos de ensaio, 300 µl de *PBS*, 100 µl de plasma e 100 µl de controle *phosphatidylcholine (PC)*. Posteriormente, 30 µl da sonda lipofílica *BODIPY* foram diluídos em *PBS* (1x), sendo 100 µl adicionados em cada tubo. As amostras foram colocadas em banho-maria a 37°C por dez minutos. Durante esse intervalo, diluiu-se o iniciador de radicais *2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)* (Merck, Alemanha). Após, foram adicionados 485 µl de *PBS* em cada tubo de amostra e, em seguida, de forma vagarosa, 80 µl do *AAPH*. Volumes de 200 µl por amostra, em triplicata, assim como o controle *PC*, foram pipetados em placa preta de 96 alvéolos, a qual foi colocada no equipamento *Wallac Victor 2* (PerkinElmer, EUA) a 37°C por ~ quatro horas. Os resultados foram tabulados em planilha e os cálculos foram realizados para obtenção dos resultados, conforme a seguinte fórmula: (média da área do *PC* - média da área da amostra) / (média da área do *PC*) x 100.

3.4.4 Enzimas antioxidantes

Para obtenção da atividade enzimática da GSH-Px e SOD em hemácias lavadas, primeiramente foram centrifugados os tubos de heparina sódica por dez minutos, a 1.500 rpm a 4°C, e após separação do plasma, as hemácias foram lavadas três vezes com *PBS* por quatro minutos, a 1.500 rpm a 4°C. Retirado o sobrenadante, volume de 100 µl de hemácias foi pipetado juntamente com 1,9 ml de solução estabilizadora (2,7 mM de EDTA e 0,7 mM de 2-mercaptoetanol). A concentração de hemoglobina foi determinada conforme descrito por Yagi (1976) para a realização do cálculo dos valores finais das atividades enzimáticas de ambas as enzimas, as quais foram determinadas, em duplicata, por imunensaio, utilizando-se protocolo descrito por Ferreira et al. (1999) com pequenas alterações, com leitura em 340 nm para GSH-Px e 420 nm para SOD, utilizando-se o *software Gen5* (Biotek, EUA).

3.4.5 Danos basais e oxidativos no DNA

O teste do cometa (alcalino e modificado com enzimas) foi realizado sob luz amarela e em duplicata conforme descrito anteriormente (Singh et al., 1988) com pequenas modificações (Nogueira et al., 2018) e de acordo com guia de recomendação para esse ensaio (Brunborg & Collins, 2020). A Figura 1 apresenta as etapas do teste do cometa.

Células mononucleares de sangue periférico (constituídas, em maior parte, por linfócitos) foram misturadas (10 µl) com 120 µl de 0,5% de agarose de baixo ponto de fusão (37°C). Essa mistura foi colocada em lâminas de microscópio previamente revestidas com camada de agarose de ponto de fusão normal (1,5%) e foram cobertas com uma lamínula. As lâminas foram resfriadas por cinco minutos para permitir que a agarose solidificasse e as lamínulas foram então cuidadosamente removidas. Em seguida as lâminas foram imersas, durante duas horas, em solução de lise gelada (EDTA 100 mM, cloreto de sódio 2,5 M, Tris 10 mM; potencial hidrogeniônico - pH de 10; Triton X-100 1% e dimetilsulfóxido 10%). Posteriormente, as lâminas foram

lavadas em *PBS* por cinco minutos e, em seguida, permaneceram três vezes (cinco minutos cada) em solução *Flare* 1x (Hepes 40 mM, cloreto de potássio 1 M, albumina sérica bovina 0,2 mg/ml e EDTA 0,5 mM, pH 8). Após a adição de 50 µl da enzima formamidopirimidina DNA glicosilase - FPG (*Uniscience*, Inglaterra), que detecta purinas oxidadas, 50 µl da enzima endonuclease III – ENDO III (*Uniscience*, Inglaterra), que detecta pirimidinas oxidadas, e 50 µl de tampão enzimático (controle) para detecção de dano basal no DNA, as lâminas foram incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. As lâminas foram então resfriadas por 15 minutos, e as lamínulas foram removidas. Todas as lâminas foram adicionadas em cuba de eletroforese horizontal com tampão gelado recém-preparado (EDTA 1 mM e NaOH 300 mM, pH >13) por 40 minutos para desespiralização do DNA. Em seguida, as lâminas foram submetidas à eletroforese (0,8 V/cm e 300 mA) por 30 minutos. O procedimento eletroforético foi validado em cada corrida usando controles internos. Após a eletroforese, as lâminas foram neutralizadas por 15 minutos (0,4 M Tris a pH 7,5), fixadas com etanol absoluto, secas ao ar e armazenadas a 4°C até o momento da análise.

As lâminas foram coradas com 80 µl de *Sybr Gold* (*Invitrogen*, Inglaterra), e 100 nucleoides para cada tipo de lesão por indivíduo (50 nucleoides/lâmina, totalizando 300 nucleoides/indivíduo) foram analisados em microscópio de fluorescência (aumento de 400 ×) acoplado a um sistema de análise de imagem (*Comet Assay IV - Perceptive Instruments*, Reino Unido). Após análise das lâminas realizou-se a tabulação dos dados e o parâmetro *tail intensity* (% de intensidade de DNA na cauda) foi utilizado para estimar o dano no DNA.

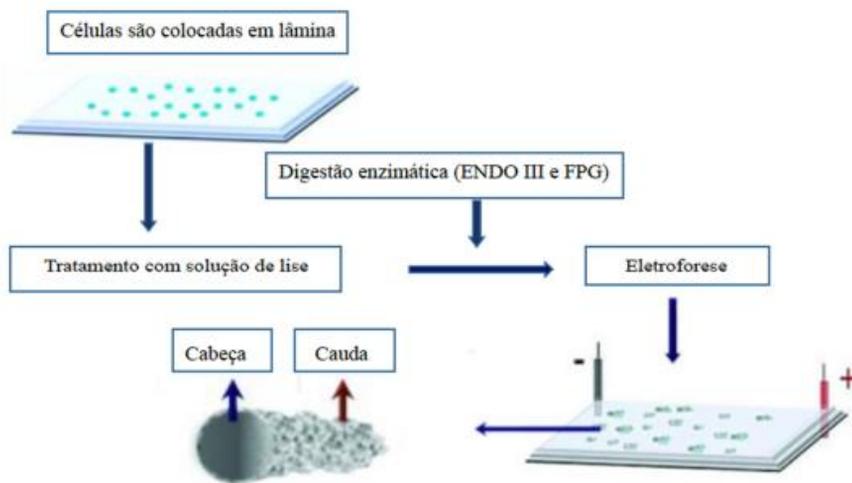


Figura 1 - Esquema representando as etapas do teste do cometa. ENDO III = endonuclease III, FPG = formamidopirimidina DNA glicosilase. Fonte: Figura adaptada de Gunasekarana et al., 2015.

3.5 Expressão gênica

A expressão gênica foi avaliada em três momentos: antes do ingresso nas respectivas residências médicas (antes da exposição - controle), após um ano e meio (meio da especialização) e dois anos e meio (final da especialização) de exposição ocupacional aos RGA.

Após descongelamento dos tubos em temperatura ambiente durante duas horas, o RNA foi extraído das células do sangue periférico pelo *kit PAXgene® Blood RNA (Qiagen/PreAnalytiX, Suíça)*, de acordo com as instruções do fabricante. As amostras de RNA foram quantificadas em espectrofotômetro *Nano Drop One (Thermo Fisher Scientific, EUA)* e cada amostra foi avaliada quanto à pureza/qualidade por absorvância (A 260/280 nm - amostras entre 1,9 e 2,0). As amostras de RNA foram armazenadas a -80°C até a etapa de transcrição reversa (*cDNA*), que foi realizada utilizando o *kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Thermo Fisher Scientific, EUA)* com as seguintes etapas de ciclo: 25°C por dez minutos seguido de duas

horas a 37°C. As amostras de *cDNA* foram armazenadas a -80°C até a detecção dos transcritos.

A reação em cadeia da polimerase quantitativa foi realizada em tempo real (*qPCR*) em triplicata em termociclador automático (*Applied Biosystems Prism 7500 Fast*, EUA) usando sondas e *primers Taqman FAM-MGB* (*Thermo Fisher Scientific*, EUA) para os genes envolvidos em reparo de dano oxidativo no DNA (*OGG1*; Hs 002134_m1) e efeitos antioxidantes (*NRF2*; Hs00975960_m1 e *HO1*; Hs 01110250_m1). O controle endógeno selecionado (*housekeeping*) foi o gene β -actina - *ACTB* (Hs99999903_m1). Utilizou-se controle negativo (para garantir que não houvesse contaminação) bem como *pool* de amostras de *cDNA* de voluntários saudáveis (como controle) sendo adicionados em cada uma das placas de 96 poços, de acordo com protocolo (Braz et al., 2011).

Para a preparação das placas, utilizou-se *TaqMan Fast Universal PCR Master mix* (*Thermo Fisher Scientific*, EUA) e as reações foram realizadas em volume final de 10 μ l, com as seguintes condições de ciclagem térmica para todos os genes: 94°C por dez minutos, seguido por 40 ciclos a 95°C por 15 segundos e 60°C por um minuto. A fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$ foi aplicada para a quantificação relativa da expressão gênica (Livak & Schmittgen, 2001).

3.6 Avaliação celular e bioquímica

Por meio do analisador hematológico *CELL-DYN Ruby* (versão 2.1, *Abbott*, EUA) realizou-se a contagem celular e diferenciada de glóbulos brancos utilizando-se amostras frescas de sangue total. Esse analisador utiliza métodos de impedância elétrica, no qual há imersão das células hematológicas em solução eletrolítica e contagem dessas a partir dos impulsos elétricos gerados por elas; além disso, também faz uso de sistema óptico e de citometria de fluxo, em que um feixe de *laser* incide sobre cada célula, a qual é reconhecida por sensores que fornecem suas características expressas em um histograma.

Para detecção sérica das enzimas hepáticas ALT, AST, ALKP e GGT utilizou-se o sistema automatizado *Vitros 950* (*Johnson & Johnson*, EUA) por meio de química seca. Neste método, não há utilização de água ou de outros reagentes líquidos, que são passíveis de contaminação, e sim uma pequena lâmina (*microslide*) com seis camadas de reagentes sólidos e filtros, que purificam as amostras e diminuem a probabilidade de contaminação, promovendo uma análise mais precisa. Trata-se de teste colorimétrico em que a reação entre o reagente cromógeno e o soro resulta na mensuração das concentrações das enzimas hepáticas.

A proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR-as) foi detectada no soro por imunoensaio quimioluminescente segundo instruções do fabricante (*High-Sensitivity CRP, Immulite 2000, Siemens Healthcare Diagnostics Products*, Reino Unido).

3.7 Avaliação neuroendócrina

A detecção sorológica dos hormônios ACTH, cortisol e prolactina foi realizada por ensaio imunoenzimático de micropartículas quimioluminescentes (*ACTH assay, Cortisol assay, Prolactin assay*, respectivamente, *Immulite 2000, Siemens Healthcare Diagnostics Products*, Reino Unido) utilizando-se o equipamento *Immulite 2000 XPi* (Reino Unido).

3.8 Análise estatística

O tamanho amostral foi calculado com base em um estudo piloto considerando o conteúdo de proteínas carboniladas. Assumindo uma diferença média de 4 nmol/mg e um desvio padrão de 3,5 entre os momentos, o mínimo de 20 indivíduos foi determinado para permitir um poder de teste de 95% (erro tipo I - α de 0,05 e um erro tipo II - β de 0,05). Considerando uma perda de 30% dos participantes ou desistências ao longo do estudo, 26 participantes foram recrutados para participar do estudo.

Utilizou-se análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) seguida do teste de Duncan para avaliação de todos os marcadores avaliados

que apresentaram distribuição normal; para as variáveis enzimas antioxidantes, gene *NFR2* e PCR-as, as quais não apresentaram distribuição normal, utilizou-se o teste de Friedman seguido do teste de Dunn. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4 RESULTADOS

Vinte e seis indivíduos foram recrutados e três participantes foram excluídos durante o estudo (um por desistir de participar do seguimento do estudo e dois por desistirem da residência médica), resultando em 23 indivíduos analisados. A Tabela 1 mostra as características demográficas e antropométricas, no momento inicial do estudo, dos 23 médicos residentes participantes, os quais dez eram da área de anestesiologia e 13 da área cirúrgica. Todos eram adultos jovens, sem obesidade, sendo 74% do sexo masculino e 26% do sexo feminino, os quais trabalhavam, em média, 41 horas semanais em centro cirúrgico. Os participantes estavam expostos a concentrações residuais anestésicas médias de dez ppm para os halogenados e 150 ppm para o N₂O.

Tabela 1 - Características demográficas e antropométricas, no momento inicial do estudo, dos médicos residentes.

Características	Médicos residentes (n = 23)
Idade (anos)	27 ± 2
Sexo (masculino / feminino)	17 / 6
Índice de massa corpórea (kg/m ²)	25 ± 3

Dados apresentados em média ± desvio-padrão ou número absoluto.

Os dados de estresse oxidativo em lipídios e proteínas estão demonstrados na Tabela 2. Os níveis de MDA aumentaram, significativamente, após um ano e meio e dois anos e meio de exposição enquanto houve aumento progressivo de oxidação proteica a partir dos seis meses e um ano de exposição, o qual se manteve até um ano e meio de exposição, com retorno dos níveis basais a partir de dois anos de exposição.

Tabela 2 - Marcadores de oxidação lipídica e proteica de médicos residentes nos momentos avaliados.

Marcadores	Momentos						Valor de p
	Antes da exposição	½ ano de exposição	1 ano de exposição	1 ½ ano de exposição	2 anos de exposição	2 ½ anos de exposição	
Malondialdeído (µM)	0,53 ± 0,11 ^a	0,56 ± 0,18 ^a	0,52 ± 0,11 ^a	0,76 ± 0,16 ^b	0,65 ± 0,15 ^a	0,78 ± 0,16 ^b	< 0,001
Proteína carbonilada (nmol/mg)	2,51 ± 2,99 ^a	6,09 ± 2,66 ^b	8,40 ± 3,10 ^c	8,04 ± 4,06 ^c	1,77 ± 0,50 ^a	1,07 ± 0,08 ^a	< 0,001

Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Momentos representados por letras distintas diferem significativamente para o parâmetro analisado.

A Tabela 3 mostra os resultados de marcadores antioxidantes durante os momentos avaliados. Em relação à capacidade antioxidante, houve aumento significativo a partir do primeiro ano da residência médica com aumento progressivo aos dois anos e meio de exposição em comparação ao momento controle. Os níveis da enzima GSH-Px aumentaram significativamente com um ano e meio de exposição e seus valores permaneceram aumentados até o final da residência médica em comparação com os valores basais. Por outro lado, os valores de SOD diminuíram com um ano e meio de exposição, sendo que os valores permaneceram diminuídos até os dois anos e meio de exposição em comparação com os momentos anteriores.

Tabela 3 - Avaliação das enzimas antioxidantes e capacidade antioxidante em médicos residentes nos momentos avaliados.

Marcadores	Momentos						Valor de p
	Antes da exposição	½ ano de exposição	1 ano de exposição	1 ½ ano de exposição	2 anos de exposição	2 ½ anos de exposição	
Capacidade Antioxidante (%)	41,2 ± 15,7 ^a	42,2 ± 14,3 ^a	59,8 ± 5,6 ^b	62,9 ± 5,4 ^b	65,2 ± 7,8 ^b	71,8 ± 6,7 ^c	< 0,001
Glutathione Peroxidase (mM/min/mg de Hb)	0,3 ^a [0,2; 0,4]	0,2 ^a [0,1; 0,4]	0,2 ^a [0,1; 0,3]	0,6 ^b [0,6; 0,7]	0,7 ^b [0,5; 0,7]	0,7 ^b [0,6; 0,7]	< 0,001
Superóxido Dismutase (U/mg Hb)	31,8 ^a [30,8; 35,8]	33,5 ^a [30,9; 35,6]	34,4 ^a [27,8; 44,2]	27,0 ^b [26,2; 27,8]	27,0 ^b [26,2; 27,9]	27,6 ^b [26,0; 28,9]	< 0,001

Dados apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana [25%; 75%]. Momentos representados por letras distintas diferem significativamente para o parâmetro analisado.

A Tabela 4 mostra os resultados da avaliação de danos genéticos. As quebras de fitas do DNA (danos basais) aumentaram, significativamente, com um ano de exposição e continuaram aumentando com um ano e meio de exposição até o momento final avaliado em comparação ao momento controle. Houve leve aumento nos níveis de pirimidinas oxidadas com um ano de exposição até dois anos de exposição e houve indução de danos oxidativos ($p < 0,05$) no final da residência médica (dois anos e meio de exposição) quando comparado ao momento anterior à exposição. Por outro lado, não houve diferença entre os momentos avaliados para purinas oxidadas ($p > 0,05$).

Tabela 4 - Danos basais e oxidativos nas bases do DNA (*tail intensity*) avaliados pelo teste do cometa em médicos residentes nos momentos avaliados.

Tipos de danos no DNA	Momentos						Valor de p
	Antes da exposição	½ ano de exposição	1 ano de exposição	1 ½ ano de exposição	2 anos de exposição	2 ½ anos de exposição	
Quebras de fita (%)	37,9 ± 10,1 ^a	43,1 ± 11,1 ^{ab}	47,1 ± 12,4 ^b	57,5 ± 13,5 ^c	59,2 ± 8,8 ^c	51,6 ± 16,4 ^c	< 0,001
Purinas oxidadas (%)	44,2 ± 10,4	47,0 ± 12,4	47,4 ± 15,0	51,3 ± 18,9	52,8 ± 12,2	53,0 ± 17,7	0,37
Pirimidinas oxidadas (%)	47,4 ± 9,1 ^a	53,1 ± 9,6 ^a	55,0 ± 13,3 ^{ab}	55,4 ± 12,0 ^{ab}	54,9 ± 14,2 ^{ab}	61,5 ± 16,8 ^b	0,01

Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Momentos representados por letras distintas diferem significativamente para o parâmetro analisado.

A Tabela 5 mostra os resultados da expressão dos transcritos analisados. Os genes *NRF2* e *OGGI* tiveram expressão aumentada com um ano e meio e dois anos e meio de exposição quando comparada ao momento controle. Diferentemente, o gene *HO1* teve sua expressão reduzida no último momento avaliado da residência médica quando comparada aos dois momentos anteriores.

Tabela 5 - Expressão relativa de genes relacionados a efeitos antioxidantes (*NRF2* e *HO1*) e reparo de danos oxidativos no DNA (*OGGI*) nos médicos residentes durante três momentos avaliados.

Genes	Momentos			Valor de p
	Antes da exposição	1 ½ ano de exposição	2 ½ anos de exposição	
<i>NRF2</i>	1,7 ^a [1,5; 1,8]	2,1 ^b [1,8; 2,2]	1,9 ^b [1,6; 2,4]	0,006
<i>HO1</i>	1,2 ± 0,3 ^a	1,1 ± 0,4 ^a	0,8 ± 0,3 ^b	0,01
<i>OGGI</i>	1,4 ± 0,3 ^a	2,5 ± 1,3 ^b	2,6 ± 1,0 ^b	< 0,001

Dados apresentados em mediana [25%; 75%] ou média ± desvio-padrão. Momentos representados por letras distintas diferem significativamente para o parâmetro analisado.

A Tabela 6 mostra que os valores de glóbulos brancos elevaram com um ano de exposição em relação ao momento controle, porém os valores de todos os momentos estavam dentro do valor de referência/normalidade. Os basófilos se elevaram (acima do valor de referência), de forma significativa, com um ano de exposição em relação ao momento anterior à exposição aos RGA, porém todos os outros valores médios se mantiveram dentro da normalidade. Quanto aos neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos não houve diferenças significativas ao longo dos momentos e todos os valores

médios (exceto para linfócitos com um ano de exposição) encontravam-se dentro da faixa de normalidade.

Tabela 6 - Contagem de leucócitos dos médicos residentes nos momentos avaliados.

Contagem Celular	Momentos						Valor de p	Valores de Referência (x 10 ³ µl)
	Antes da exposição	½ ano de exposição	1 ano de exposição	1 ½ ano de exposição	2 anos de exposição	2 ½ anos de exposição		
Glóbulos brancos	6,7 ± 1,6 ^a	7,3 ± 1,8 ^{ab}	8,6 ± 2,4 ^b	7,2 ± 1,5 ^{ab}	7,0 ± 2,1 ^{ab}	7,3 ± 1,9 ^{ab}	0,03	3,7 - 10,1
Neutrófilos	3,5 ± 1,2	3,6 ± 1,1	4,4 ± 1,6	3,6 ± 1,0	3,3 ± 1,1	3,7 ± 1,8	0,08	1,63 - 6,96
Linfócitos	2,4 ± 0,7	2,9 ± 1,0	3,1 ± 0,9	2,7 ± 0,7	2,7 ± 0,9	2,6 ± 0,8	0,10	1,09 - 2,99
Monócitos	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,14	0,24 - 0,79
Eosinófilos	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,34	0,03 - 0,44
Basófilos	0,08 ± 0,05 ^a	0,05 ± 0,03 ^a	0,14 ± 0,16 ^b	0,08 ± 0,03 ^a	0,08 ± 0,03 ^a	0,08 ± 0,03 ^a	0,001	0 - 0,08

Dados apresentados em média ± desvio-padrão. Momentos representados por letras distintas diferem significativamente para o parâmetro analisado.

A Tabela 7 mostra os resultados da avaliação bioquímica além de marcador inflamatório. Como os valores de referência para a maioria das enzimas hepáticas difere entre os sexos, subdividimos os indivíduos pelo sexo para as enzimas ALT, AST e GGT. A enzima ALT, somente no sexo masculino, teve seus valores diminuídos com um ano e meio de exposição em relação ao momento pré-exposição. Os valores de AST não diferiram entre os momentos para ambos os sexos. Quanto à enzima GGT, seus níveis aumentaram com um ano e meio de exposição em comparação aos seus valores basais no sexo masculino; já no sexo feminino a enzima apresentou pequenas oscilações ao longo dos momentos, com pequeno aumento com um ano e meio de exposição, momento no qual o valor médio excedeu um pouco o valor máximo de referência. Já para a ALKP, houve redução de seus valores somente com um ano e meio de exposição em relação aos valores basais. Não houve diferença significativa, entre os momentos, para o marcador PCR-as ($p > 0,05$). Ressalte-se que em todos os parâmetros avaliados os resultados se mantiveram dentro dos limites de referência.

Tabela 7 - Mensuração, subdividida por sexo, de marcadores hepáticos dos médicos residentes nos momentos avaliados.

Sexo	Marcador	Momentos						Valor de p	Valores de Referência
		Antes da exposição	½ ano de exposição	1 ano de exposição	1 ½ ano de exposição	2 anos de exposição	2 ½ anos de exposição		
M	ALT (U/l)	35,4 ± 16,8 ^a	24,6 ± 8,8 ^{ab}	29,3 ± 12,5 ^{ab}	21,9 ± 8,8 ^b	43,1 ± 9,5 ^a	42,3 ± 16,8 ^a	< 0,0001	21 - 72
F		31,7 ± 21,7	25,2 ± 20,1	24,2 ± 12,7	18,7 ± 10,0	29,5 ± 3,1	34,3 ± 12,1	0,49	9 - 52
M	AST (U/l)	28,6 ± 9,6	26,3 ± 9,0	21,8 ± 4,2	28,4 ± 7,3	26,1 ± 4,9	27,7 ± 7,6	0,09	17 - 59
F		23,3 ± 8,4	27,2 ± 13,7	21,5 ± 3,3	24,0 ± 9,4	21,0 ± 3,0	23,3 ± 4,4	0,81	14 - 36
M	GGT (U/l)	30,6 ± 15,2 ^a	26,9 ± 11,4 ^a	25,4 ± 17,1 ^a	51,4 ± 13,7 ^b	25,2 ± 12,5 ^a	26,2 ± 13,9 ^a	< 0,001	15 - 73
F		30,3 ± 15,0 ^{ab}	24,7 ± 12,8 ^{ab}	19,7 ± 8,1 ^{ab}	49,2 ± 20,2 ^a	17,2 ± 3,0 ^b	22,3 ± 7,9 ^{ab}	0,04	12 - 43
M/F	ALKP (U/l)	65,0 ± 11,3 ^a	60,7 ± 13,1 ^a	61,5 ± 15,3 ^a	53,0 ± 14,1 ^b	60,0 ± 10,3 ^a	60,9 ± 10,9 ^a	0,007	38 - 126
M/F	PCR-as (mg/l)	1,2 [0,7; 1,8]	1,1 [0,6; 1,7]	1,2 [0,6; 2,3]	0,9 [0,5; 1,9]	1,0 [0,5; 2,1]	1,0 [0,5; 2,4]	0,90	< 3

Dados apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana [25%;75%]. M: sexo masculino, F: sexo feminino. ALT: Alanina Transaminase, AST: Aspartato Transaminase, GGT: Gamaglutamil Transferase, ALKP: Fosfatase Alcalina, PCR-as: proteína C reativa de alta sensibilidade. Momentos representados por letras distintas diferem significativamente para o parâmetro analisado.

A Tabela 8 demonstra os resultados do sistema neuroendócrino avaliado. Em relação à prolactina, seus valores aumentaram, significativamente, com um ano, dois anos e dois anos e meio de exposição quando comparados ao momento controle. Por outro lado, para o hormônio cortisol, não houve diferença significativa nos momentos avaliados. Quanto ao ACTH, seus valores oscilaram entre os momentos, mas houve redução de seu valor no final da residência médica quando comparado ao momento controle (antes da exposição). Ressalta-se, porém, que para os três hormônios, todos os valores médios permaneceram dentro da faixa de referência.

Tabela 8 - Mensuração dos parâmetros hormonais nos médicos residentes durante os momentos avaliados.

Marcadores	Momentos						Valor de p	Valores de Referência
	Antes da exposição	½ ano de exposição	1 ano de exposição	1 ½ ano de exposição	2 anos de exposição	2 ½ anos de exposição		
Prolactina (ng/ml)	11,6 ± 7,4 ^a	14,7 ± 9,2 ^{ab}	17,3 ± 10,4 ^b	16,1 ± 10,2 ^{ab}	18,1 ± 7,4 ^b	17,8 ± 8,4 ^b	0,037	1,9 - 25
Cortisol (µg/dl)	16,3 ± 6,5	18,6 ± 6,4	20,3 ± 11,1	18,1 ± 5,3	18,7 ± 5,2	17,2 ± 5,3	0,32	5 - 25
ACTH (pg/ml)	12,5 ± 8,5 ^{ab}	18,0 ± 10,6 ^a	11,7 ± 8,7 ^{bc}	13,9 ± 9,3 ^{ab}	14,1 ± 8,9 ^{ab}	8,2 ± 8,3 ^c	< 0,001	< 46

Dados apresentados em média ± desvio-padrão. ACTH: hormônio adrenocorticotrófico. Momentos representados por letras distintas diferem significativamente para o parâmetro analisado.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo biomonitorou jovens médicos saudáveis, ao longo do período de residência médica, os quais atuaram em centro cirúrgico com sistema inadequado de exaustão de gases. A exposição a altas concentrações de RGA induziu estresse oxidativo em macromoléculas e alterações no sistema antioxidante, danos genéticos e alterações transcricionais nesses profissionais; porém não houve grande repercussão nos marcadores bioquímicos e neuroendócrinos.

As concentrações dos RGA no ambiente de trabalho, as quais os médicos residentes estavam expostos, estavam muito superiores aos valores recomendados pela *NIOSH* (1992) tanto para os anestésicos halogenados (cinco vezes) quanto para o N_2O (seis vezes). Infelizmente na maioria dos centros cirúrgicos no Brasil, assim como em outros países em desenvolvimento, não há sistemas de exaustão de gases (ou são inadequados), possivelmente devido à falta de legislação e ao alto custo de investimento inicial para sua implantação (Ammal et al., 2016; Lucio et al., 2018). De fato, as SO do presente estudo não atendem às normas do *American Institute of Architects* (AIA, 1992) que recomenda um sistema de fluxo laminar com mínimo de 15 trocas por hora sem recirculação de ar. Portanto, é prudente tentar minimizar a exposição ocupacional aos RGA, mantendo-a em concentrações as menores possíveis (*OSHA*, 2000).

Os mecanismos pelos quais os anestésicos halogenados podem induzir estresse oxidativo não são totalmente compreendidos, mas as possíveis explicações incluem metabólitos oxidativos (especialmente pelo citocromo P450 - CYP2E1) e danos ao genoma em qualquer estágio do ciclo celular (Chinelato & Froes, 2002). Em relação ao N_2O , esse gás pode elevar a concentração citosólica de espécies de ferro de baixo peso molecular, que catalisam a formação de ERO nas reações de *Haber-Weiss* e *Fenton*; além disso, o N_2O promove a redução de um elétron da vitamina B12 da metionina

sintase seguida pela formação de superóxido e radicais hidroxila (Wrońska-Nofer et al., 2012).

De fato, o presente estudo mostrou, de forma pioneira, que médicos residentes apresentaram alteração do estado redox já aos seis meses de exposição ocupacional aos RGA em termos de oxidação proteica, a qual se manteve até a metade do período de especialização. De fato, acredita-se que as proteínas carboniladas são formadas precocemente nas células em decorrência de dano oxidativo (Dalle-Donne et al., 2003); níveis decrescentes de oxidação proteica já foram descritos em estudos que avaliaram outras condições além da exposição ocupacional (Abu-Zidan et al., 2002; Andresen et al., 2008). O único estudo transversal disponível na literatura que tenha avaliado oxidação proteica em profissionais expostos por três anos a altas concentrações de isoflurano, sevoflurano e N₂O quando comparados a profissionais não expostos não mostrou diferença entre os grupos (Braz et al., 2020). Adicionalmente, fazendo um paralelo com estudo clínico, houve aumento de proteínas carboniladas após seis horas e 24 horas de procedimento cirúrgico em pacientes expostos ao desflurano, associado ou não ao N₂O (Sivaci et al., 2006), sugerindo que as proteínas são marcadores precoces e sensíveis do desbalanço redox.

Outra vertente do desbalanço redox é validada pela peroxidação lipídica induzida na metade e no final da residência médica pela elevação do MDA plasmático. Os fosfolipídios da membrana celular são particularmente suscetíveis ao processo de peroxidação, que leva a alterações na estrutura e permeabilidade da membrana, resultando em perda de seletividade de troca iônica, liberação do conteúdo de organelas e formação de produtos citotóxicos, como o MDA (Ayala et al., 2014). Portanto, trata-se de marcador importante de produtos secundários da lipoperoxidação; adicionalmente, o dano oxidativo aos lipídios pode afetar as proteínas pela produção de produtos secundários da peroxidação lipídica pela formação de aductos proteicos (Marnett, 2000).

Alguns estudos transversais corroboram com os nossos achados; Malekirad et al. (2005) observaram aumento de peroxidação lipídica plasmática em profissionais expostos principalmente ao N₂O e halotano, atuantes em média por nove anos em centro cirúrgico, no qual as SO não tinham adequado sistema de exaustão, quando comparados a um grupo não exposto. Um estudo recente também mostrou aumento de MDA em profissionais expostos, em média por 11 anos, a concentrações de isoflurano, sevoflurano e N₂O que excediam o limite recomendado (Neghab et al., 2020a). Outro estudo comparou enfermeiras expostas ao isoflurano, sevoflurano e N₂O (altas concentrações) com um grupo controle e também verificou aumento de marcador de peroxidação lipídica (Wrońska-Nofer et al., 2012). Por outro lado, estudo que avaliou anestesiológicos universitários que não passam a maior parte da atividade profissional no centro cirúrgico não mostrou aumento de MDA, quando comparados a um grupo de médicos não expostos (Souza et al., 2021).

Portanto, nossos achados contribuem para reforçar o papel do estresse oxidativo tanto em lipídios como em proteínas, os quais já ocorrem em jovens profissionais expostos aos anestésicos mais modernos, juntamente ao N₂O, durante a residência médica. Ressalte-se que o ataque oxidativo em proteínas e lipídios pode aumentar o risco de mutagênese (Reuter et al., 2010). Há evidências sugerindo que os processos oxidativos podem contribuir substancialmente para a genotoxicidade associada a várias condições patológicas, bem como à exposição a poluentes ambientais e ocupacionais (Rohr et al., 2013; Adetona et al., 2019; Qu et al., 2019).

De fato, detectamos aumento gradativo nas quebras de fitas do DNA ao longo da exposição aos RGA nos médicos residentes. As ERO podem causar quebras nas fitas de DNA, levando à instabilidade genômica, e o dano no DNA pode ser considerado biomarcador de exposição aos anestésicos. Médicos que atuavam em SO sem qualquer sistema de exaustão expostos ocupacionalmente aos RGA (sem mensuração no local de trabalho) tiveram aumento de danos basais no DNA após 16 meses do início da residência

médica em hospital de Manaus em comparação com um grupo controle (Costa Paes et al., 2014). Em outro estudo transversal, médicos avaliados somente no final de residência médica e os quais estavam expostos (por três anos) aos anestésicos isoflurano, sevoflurano e N₂O no HCFMB-UNESP apresentaram aumento significativo de danos basais no DNA quando comparados a um grupo de médicos não expostos (Braz et al., 2020).

As principais causas da oxidação no DNA podem resultar da exposição a genotóxicos ambientais e por radicais livres/ERO endógenos, em particular radicais superóxidos liberados da cadeia respiratória na mitocôndria (Dusinska & Collins, 2010). Apenas um número limitado de artigos, delineados como estudos transversais, detectou dano oxidativo no DNA (teste do cometa), com achados conflitantes em relação à exposição ocupacional aos RGA. Dois estudos avaliaram profissionais expostos por longo período a altas concentrações anestésicas e avaliaram apenas bases oxidadas reconhecidas por FPG, e foram encontrados achados controversos (Wrońska-Nofer et al., 2012; Souza et al., 2021); o terceiro estudo avaliou ambas as enzimas (ENDO III e FPG) em médicos expostos a uma mistura de anestésicos e foi observada ausência de alterações nas bases oxidativas do DNA quando comparados com médicos não expostos (Braz et al., 2020). Assim, pela primeira vez, nossos resultados mostram que tanto as quebras no DNA, que ocorreram mais precocemente, quanto os danos oxidativos no DNA (pirimidinas), que ocorreram mais tardiamente, foram devido à alta exposição aos anestésicos halogenados modernos e N₂O em jovens profissionais durante o período de especialização.

É importante ressaltar que a intensidade da exposição (altas concentrações) e a duração da exposição (carga de trabalho semanal e anos) podem ser indicadores relevantes na avaliação de danos genéticos (basais e oxidativos) relativos à exposição ocupacional aos RGA.

Para se obter um quadro completo do estresse oxidativo, é importante considerar não apenas a oxidação de proteínas, lipídios e DNA, mas também o status antioxidante. Para prevenir o estresse oxidativo, as células possuem

mecanismos de defesa, como enzimas antioxidantes, que desempenham papel crucial na manutenção do estado redox homeostático. Em humanos, a combinação de GSH-Px e SOD é ferramenta poderosa para a desintoxicação de radicais livres e ERO gerados dentro da célula (Miyamoto et al., 2010). Os nossos achados mostraram diferentes comportamento na atividade dessas enzimas a partir de um ano e meio de exposição. A redução da atividade da SOD pode ter ocorrido devido à sua depleção ou inibição como resultado do aumento da produção de radicais livres/ERO (observada em proteínas e lipídios). No entanto, em uma condição de estresse oxidativo, conforme observado em nosso estudo, seria esperado um aumento da atividade dos antioxidantes para neutralização das ERO, como ocorreu com a GSH-Px, a qual é capaz de reduzir o peróxido de hidrogênio e os hidroperóxidos lipídicos. Portanto, foi importante a GSH-Px ser induzida para tentar proteger as células da oxidação de biomoléculas, para tentar reverter o quadro de estresse oxidativo instalado nesses jovens profissionais.

Semelhante aos nossos achados, em estudo transversal recente, os autores relataram diminuição da atividade da enzima antioxidante (SOD) e aumento da peroxidação lipídica (MDA) quando trabalhadores atuantes em centro cirúrgico foram expostos a concentrações elevadas dos anestésicos mais amplamente utilizados (Neghab et al., 2020a), reforçando que a exposição repetitiva ou contínua/prolongada aos RGA acima da recomendação da *NIOSH* leva ao estresse oxidativo. Além disso, profissionais expostos a uma mistura de anestésicos antigos e modernos também apresentou níveis mais baixos de SOD quando comparados com um grupo controle (Türkan et al., 2005). Por outro lado, o estudo mencionado também relatou níveis mais baixos de GSH-Px no grupo exposto. Em outro estudo transversal, a atividade da GSH-Px estava reduzida enquanto não houve alteração no antioxidante α -tocoferol em enfermeiras expostas a altas concentrações de N_2O (Wrońska-Nofer et al., 2012). De forma semelhante ao nosso estudo, verificou-se que médicos que trabalhavam em SO tiveram aumento de GSH-

Px aos 16 meses e 22 meses da residência em comparação com um grupo controle (Costa Paes et al., 2014).

Juntamente com as enzimas antioxidantes, nossos dados também demonstraram indução progressiva da capacidade antioxidante plasmática nos médicos residentes expostos, sugerindo que a defesa antioxidante aumentou em decorrência da oxidação proteica e lipídica, além da oxidação de bases no DNA para compensar o organismo, com recrutamento de antioxidantes para combater a exacerbação do processo oxidativo. Em contrapartida, diferentemente de nossos achados, estudos transversais disponíveis na literatura sobre a temática encontraram diminuição do status antioxidante (Baysal et al., 2009; Izdes et al., 2010; Neghab et al., 2020a) ou ausência de alterações significativas em profissionais expostos quando comparados a profissionais não expostos (Malekirad et al., 2005; Braz et al., 2020; Souza et al., 2021). Deve-se ressaltar que os estudos diferem quanto ao método de avaliação de capacidade antioxidante, tipo de amostra biológica analisada, tempo de exposição aos RGA, se os profissionais trabalhavam em SO com ou sem sistema de exaustão, se os profissionais foram expostos a anestésicos modernos ou mais antigos, se a poluição anestésica foi mensurada, entre outros parâmetros.

Destaca-se que, diferentemente das pesquisas realizadas, somente indivíduos jovens, sem comorbidades, e recém-expostos aos RGA foram avaliados na presente pesquisa, e, portanto, com maior possibilidade de apresentarem boa resposta do sistema antioxidante, já que os danos gerados em macromoléculas parecem estimular o sistema de defesa do organismo. Ressalte-se também que o teste de capacidade antioxidante realizado distingue a oxidação dos compartimentos aquoso e lipídico, bem como a interação entre eles, diferentemente da grande maioria dos métodos utilizados na literatura que aferem somente a capacidade antioxidante hidrofílica. Contudo, possivelmente essa capacidade antioxidante pode não ser tão responsiva face à alta exposição aos RGA por longo prazo em indivíduos mais experientes.

A análise transcricional de genes é ferramenta importante para a detecção de possíveis alterações precoces especialmente nas células do sangue periférico, por refletir eventos precoces de toxicidade que ocorrem no organismo após exposição a agentes exógenos (Lin & Barbosa, 2002). Assim, trata-se da primeira pesquisa a monitorar possíveis alterações moleculares durante a exposição ocupacional aos RGA durante o período de especialização. O estresse oxidativo pode ativar uma variedade de fatores de transcrição, incluindo o *NRF2*, que induzem a expressão de vários genes, incluindo aqueles necessários para a desintoxicação de moléculas oxidantes, reparo e manutenção da homeostase celular (Reuter et al., 2010; Espinosa-Diez et al., 2015).

A via do *NRF2* é extremamente importante na manutenção da integridade das mitocôndrias sob condições de estresse ambiental (Dinkova-Kostova & Abramov, 2015) e o gene *NRF2* coordena a expressão de genes contendo elementos de resposta antioxidante, incluindo enzimas GSH-Px, SOD e *HO1* (Huang et al., 2015). De fato, como esperado, a expressão de *NRF2* aumentou frente à exposição residual anestésica nos médicos avaliados em consequência dos danos oxidativos. Além disso, esse fator de transcrição possivelmente modulou a indução de GSH-Px e a defesa antioxidante para aumentar a resposta antioxidante nos médicos residentes expostos.

Diferentemente do ocorrido com o *NRF2*, a expressão de *HO1* diminuiu no final do período da residência médica; a supressão de *HO1* pode estar relacionada ao aumento da resposta inflamatória e do estresse oxidativo (Sherif et al., 2018). Outro estudo que avaliou exposição ocupacional a poluentes ambientais também mostrou diminuição do gene *HO1* (Peruzzi et al., 2019). No entanto, sabe-se que alterações na transcrição gênica não refletem necessariamente alterações em nível proteico.

O reparo do tipo *BER* é considerado uma das principais vias para o reparo de danos induzidos por ERO, como bases oxidadas e quebras de fitas do DNA e o gene *OGG1* desempenha papel relevante neste mecanismo (Janssen et al., 2001). Fazendo paralelo com estudos clínicos, a modulação do

gene *OGGI* foi relatada em pacientes anestesiados com isoflurano (Braz et al., 2011; Freire et al., 2018). Considerando que as quebras de fita de DNA aumentaram durante a exposição aos RGA e que as bases de DNA foram oxidadas, possivelmente houve aumento da expressão de *OGGI* para reparar essas lesões genéticas.

Em relação à avaliação hematológica, foram observadas pequenas oscilações nos valores encontrados ao longo do período da especialização/exposição, entretanto a grande maioria dos valores encontrava-se dentro da faixa de normalidade, exceto para um ano de exposição, momento no qual se observou discreta linfocitose e basofilia, mas acreditamos que esses resultados não tenham relevância biológica. Um leve aumento de basófilos pode ser encontrado em infiltrados inflamatórios e também em casos de alergia, o que é corroborado pelo fato de que essas duas condições não foram observadas após um ano de exposição. Respalhando nossos achados, estudos transversais também não detectaram alterações hematológicas tanto na contagem linfocitária em médicos expostos cronicamente aos RGA isoflurano e N₂O quando comparados a um grupo de médicos não expostos (Bargellini et al., 2001) quanto na contagem de leucócitos em 52 profissionais atuantes em SO e expostos aos RGA (isoflurano, sevoflurano e N₂O) em relação ao grupo controle (Amiri et al., 2018).

Por outro lado, estudos de delineamento transversal que avaliaram profissionais expostos aos RGA, incluindo os mais antigos halogenados, encontraram diferentes achados. Profissionais expostos por 14 anos aos RGA halotano, enflurano, isoflurano e N₂O tiveram linfocitose e neutropenia quando foram comparados ao grupo controle (Casale et al., 2014). Profissionais expostos cronicamente a altas concentrações do halotano e N₂O tiveram redução de leucócitos, neutrófilos, linfócitos e basófilos comparados a um grupo não exposto (Perić et al., 1991).

Adicionalmente, um dos principais efeitos advindos da exposição aos RGA seria o possível aumento transitório dos níveis de algumas enzimas

hepáticas. Apesar de pequenas flutuações das quatro enzimas analisadas, em ambos os sexos, não se detectou nenhuma alteração importante ao longo da residência médica, tendo em vista que em todos os momentos avaliados todas as enzimas permaneceram dentro dos valores de normalidade, exceto a GGT (com um ano e meio de exposição) no sexo feminino. Um estudo investigou 106 médicos alocados em grupo exposto (halogenados mais utilizados atualmente e N₂O) e grupo controle e não encontrou alterações nas principais enzimas hepáticas quando se comparou os grupos (Aun et al., 2021), corroborando com os nossos achados. Adicionalmente, Neghab et al. (2020b) avaliaram anestesiológicas, cirurgiões, técnicos e enfermeiras expostos em média a 11 anos ao N₂O, isoflurano e sevoflurano e observaram que apesar de ALT, AST e GGT estarem significativamente maiores no grupo exposto do que no grupo controle, todos os valores médios estavam dentro da normalidade. Diferentemente, três estudos verificaram alterações nas enzimas hepáticas em profissionais expostos, mas não consideraram os valores de referência; Casale et al. (2014) observaram aumento estatisticamente significativo das concentrações das enzimas ALT, AST e GGT em profissionais da saúde (anestesiológicas, cirurgiões, enfermeiros, entre outros) expostos por mais de 20 horas semanais aos RGA (halotano, enflurano, isoflurano e N₂O); Caciari et al. (2013) observaram aumento significativo de GGT nos profissionais expostos a baixas concentrações de RGA em comparação com os profissionais controles; e Jafari et al. (2018) demonstraram aumento das enzimas ALT e AST, mas não de ALKP, em diferentes profissionais (técnicos e enfermeiras) expostos aos RGA com valores abaixo e acima dos valores recomendados pela *NIOSH* para os anestésicos sevoflurano e isoflurano, respectivamente, sem mensuração para o N₂O. Sugerimos, portanto, que a avaliação dos parâmetros quando estiverem dentro da faixa de normalidade é mais relevante que mostrar possíveis diferenças estatísticas entre os momentos, porque essa informação (dentro da faixa de referência) parece refletir melhor o real efeito biológico da exposição ocupacional aos RGA nos marcadores hepáticos.

Concomitantemente às quatro enzimas hepáticas, notou-se que a PCR-as, proteína produzida pelo fígado, cuja concentração sanguínea se eleva quando há indicativo de processo inflamatório ou infeccioso, sendo normalmente um dos primeiros indicadores a se elevar, estava dentro do limite de normalidade. Fazendo um paralelo com pacientes cirúrgicos sob anestesia mantida com desflurano e sevoflurano, não se encontrou diferença significativa nas concentrações intra- e pós-operatórias da PCR-as em relação ao período anterior ao ato anestésico-cirúrgico na comparação entre os grupos e em cada um dos grupos (Marana et al., 2013). De forma similar, outro estudo realizado em pacientes cirúrgicos submetidos ao desflurano associado ou não ao N₂O não encontrou diferença significativa entre os grupos para PCR-as (Arruda et al., 2021). Provavelmente, nossos achados referentes às avaliações bioquímicas podem ser explicados devido às propriedades físico-químicas dos halogenados mais modernos utilizados (desflurano, sevoflurano e isoflurano) serem mais favoráveis que os halogenados mais antigos (especialmente o halotano), já que os anestésicos mais recentes têm baixas taxas de solubilidade sanguínea e de metabolização (Stachnik, 2006). De fato, a taxa de degradação metabólica do desflurano é 0,02%, o isoflurano tem 0,2% e o sevoflurano tem, em torno, de 3%-5%, o que diminui consideravelmente o potencial de indução de anormalidade bioquímica hepática (Saraiva, 2003).

Em relação ao sistema neuroendócrino, a prolactina e o ACTH apresentaram pequenas oscilações durante os momentos avaliados, diferentemente do que ocorreu com o cortisol; entretanto todos os hormônios permaneceram dentro dos seus valores de normalidade. O ACTH é um hormônio secretado pela glândula pituitária e é responsável por regular a síntese do cortisol. Em situações de estresse, ocorre grande aumento dos níveis de ACTH, com conseqüente aumento do cortisol que desempenha papel importante na adaptação do organismo a situações de estresse (Kurosawa & Kato, 2008). Em contraste, o sistema dopaminérgico modula a prolactina, que é o único hormônio secretado independentemente do estímulo

hipotalâmico (Mutti et al., 1993), e seu aumento pode ser uma resposta importante a situações estressantes (Graziola et al., 2005; Paola et al., 2015). O cortisol apresenta um ritmo circadiano acentuado, com níveis baixos durante a primeira parte da noite, valores crescentes no início da manhã, pico ao despertar e valores decrescentes ao longo do dia (Kudielka et al., 2007). Portanto, foi importante predefinir o período de coleta de sangue pela manhã, sempre no mesmo horário, em nosso estudo. Prolongada ou repetida ativação dos sistemas HPA e simpato-adrenal pode aumentar o risco de distúrbios físicos ou psiquiátricos (McEwen, 1998).

Contudo, a literatura é extremamente escassa no que tange a resposta hormonal frente à exposição ocupacional aos RGA. A exposição a alta poluição anestésica, como 500 ppm ao N₂O e superior a 15 ppm aos halogenados antigos halotano e enflurano, prejudica o comportamento neurocomportamental (Mahoney et al., 1988). Adicionalmente, estudo realizado com médicos atuantes em centro cirúrgico e expostos ao N₂O e halogenados mostrou que após uma semana com constante uso de anestesia inalatória esses profissionais apresentaram menor tempo de reação (quando aplicaram um teste chamado *simple reaction time*) como avaliação neurocomportamental, aumento da secreção de prolactina e níveis de cortisol inalterados quando comparados com profissionais que não estavam utilizando anestésicos inalatórios e grupo controle (Lucchini et al., 1996). Assim, os autores enfatizam que mesmo uma baixa exposição anestésica em profissionais atuantes em SO está associada com comprometimento do desempenho neurocomportamental, com possível interferência do sistema dopaminérgico.

Uma limitação do presente estudo deve ser reconhecida: os médicos residentes foram esporadicamente expostos à radiação. No entanto, utilizou-se proteção adequada (protetor cervical de chumbo e avental de chumbo), o que certamente minimizou o impacto dessa exposição em nossos resultados. Os pontos fortes de nosso estudo incluem originalidade, tipo do estudo

(longitudinal e prospectivo), avaliação dos RGA no local de trabalho, rigorosos critérios de inclusão e os métodos aplicados.

Portanto, nosso estudo longitudinal contribui com relevante informação a respeito da evolução temporal de eventos tóxicos em adultos jovens expostos aos anestésicos mais utilizados mundialmente em centro cirúrgico sem adequado sistema de exaustão de gases. Dessa forma, enfatiza-se a importância de monitoramento nesses profissionais e a urgente necessidade de melhorias na infraestrutura das SO com o intuito de mitigar tanto a poluição anestésica quanto à exposição ocupacional anestésica.

6 CONCLUSÃO

A exposição ocupacional a altas concentrações de RGA induz estresse oxidativo (oxidação proteica, lipídica e no DNA além de alterações antioxidantes), danos genéticos e alterações transcricionais em médicos durante o período da especialização. Por outro lado, leves oscilações, sendo a maioria dos dados dentro da faixa de normalidade, foram observadas na contagem leucocitária e nos parâmetros bioquímicos e hormonais. Apesar dos indivíduos avaliados serem jovens e saudáveis, pode-se verificar efeitos deletérios frente à exposição ocupacional aos RGA, antes mesmo de iniciarem suas carreiras.

7 REFERÊNCIAS¹

Abu-Zidan FM, Plank LD, Windsor JA. Proteolysis in severe sepsis is related to oxidation of plasma protein. *Eur J Surg.* 2002;168:119-23.

Adetona AM, Martin WK, Warren SH, Hanley NM, Adetona O, Zhang JJ, et al. Urinary mutagenicity and other biomarkers of occupational smoke exposure of wildland firefighters and oxidative stress. *Inhal Toxicol.* 2019;31:73-87.

Aldini G, Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI. A method to measure the oxidizability of both the aqueous and lipid compartments of plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001;31:1043-50.

Alexander BH, Checkoway H, Nagahama SI, Domino KB. Cause-specific mortality risks of anesthesiologists. *Anesthesiology.* 2000;93:922-30.

Al-Rasheedi KA, Alqasoumi AA, Emara AM. Effect of inhaled anaesthetics gases on cytokines and oxidative stress alterations for the staff health status in hospitals. *Int Arch Occup Environ Health.* 2021. doi: 10.1007/s00420-021-01705-y

American Institute of Architects - AIA. Guidelines for construction and equipament of hospital and medical facilities 1992-93. The American Institute of Architects Committee on Architecture for Health [Internet]. Washington: U.S. Department of Health and Human Services; 1992 [citado 12 Jul 2021]. Disponível em: <https://www.aaalac.org/pub/?id=E9011381-DBE1-AFEC-79E3-98304990FA2A>

American Society of Anesthesiologists - ASA. Inhaled anesthetic 2020 challenge [Internet]. Washington: ASA; 2021 [citado 12 Fev 2021]. Disponível em: <https://www.asahq.org/about-asa/governance-and-committees/asa-committees/committee-on-equipment-and-facilities/environmental-sustainability/inhaled-anesthetic-2020-challenge>

¹ International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal: sample references [Internet]. Bethesda: U.S. National Library of Medicine; 2018 [Last Reviewed 2018 Apr 26]; cited 2021 Jul 12]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Amiri F, Neghab M, Shouroki FK, Yousefinejad S, Hassanzadeh J. Early, subclinical hematological changes associated with occupational exposure to high levels of nitrous oxide. *Toxics*. 2018;6:70.

Amma RO, Ravindran S, Koshy RC, Jagathnath Krishna KM. A survey on the use of low flow anaesthesia and the choice of inhalational anaesthetic agents among anaesthesiologists of India. *Indian J Anaesth*. 2016;60:751-6.

Andersen MPS, Nielsen OJ, Wallington TJ, Karpichev B, Sander SP. Assessing the impact on global climate from general anesthetic gases. *Anesth Analg*. 2012;114:1081-5.

Andresen M, Regueira T, Bruhn A, Perez D, Strobel P, Dougnac A, et al. Lipoperoxidation and protein oxidative damage exhibit different kinetics during septic shock. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:168652.

Anti S, Giorgi R, Chahade W. Antiinflamatórios hormonais: glicocorticóides. *Einstein*. 2008;6:159-65.

Aragonés JMM, Ayora AA, Ribalta AB, Parici AC, Lavela JAM, Vidiella JS, et al. Occupational exposure to volatile anaesthetics: a systematic review. *Occup Med (Lond)*. 2016;66:202-7.

Arruda NM, Braz LG, Nogueira FR, Souza KM, Aun AG, Carvalho LR, et al. Gene and systemic inflammatory effects and neuroendocrine response in surgical patients anesthetized with desflurane-nitrous oxide or desflurane-nitrous oxide-free: a randomized trial. *Int Immunopharmacol*. 2021;90:107163.

Aun AG, Golim MA, Nogueira FR, Souza KM, Arruda NM, Braz JRC, et al. Monitoring early cell damage in physicians who are occupationally exposed to inhalational anesthetics. *Mutat Res*. 2018;812:5-9.

Aun AG, Souza KM, Guedes JL, Figueiredo DBS, Lara JR, Silva MAP, et al. Hepatotoxic and neuroendocrine effects in physicians occupationally exposed to most modern halogenated anesthetics and nitrous oxide. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2021;81:103515.

Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:360438.

Bargellini A, Rovesti S, Barbieri A, Vivoli R, Roncaglia R, Righi E, et al. Effects of chronic exposure to anaesthetic gases on some immune parameters. *Sci Total Environ*. 2001;270:149-56.

Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova*. 2006;29:113-23.

Baysal Z, Cengiz M, Ozgonul A, Cakir M, Celik H, Kocyigit A. Oxidative status and DNA damage in operating room personnel. *Clin Biochem*. 2009;42:189-93.

Braz MG, Fávero Salvadori DM. Influence of endogenous and synthetic female sex hormones on human blood cells in vitro studied with comet assay. *Toxicol In Vitro*. 2007;21:972-6.

Braz MG, Mazoti MÁ, Giacobino J, Braz LG, Golim MA, Ferrasi AC, et al. Genotoxicity, cytotoxicity and gene expression in patients undergoing elective surgery under isoflurane anaesthesia. *Mutagenesis*. 2011;26:415-20.

Braz MG, Braz LG, Braz JR, Pierine DT, Correa CR, Ferreira AL, et al. Comparison of oxidative stress in ASA physical status I patients scheduled for minimally invasive surgery under balanced or intravenous anesthesia. *Minerva Anesthesiol*. 2013;79:1030-8.

Braz LG, Braz JRC, Cavalcante GAS, Souza KM, Lucio LMC, Braz MG. Comparison of waste anesthetic gases in operating rooms with or without an scavenging system in a Brazilian University Hospital. *Braz J Anesthesiol*. 2017;67:516-20.

Braz MG, Souza KM, Lucio LMC, Di Renzo GCC, Feliciano LM, Marcondes JPC, et al. Detrimental effects detected in exfoliated buccal cells from anesthesiology medical residents occupationally exposed to inhalation anesthetics: an observational study. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2018;832-833:61-4.

Braz MG, Carvalho LIM, Chen CO, Blumberg JB, Souza KM, Arruda NM, et al. High concentrations of waste anesthetic gases induce genetic damage and inflammation in physicians exposed for three years: a cross-sectional study. *Indoor Air*. 2020;30:512-20.

Briggs G, Maycock J. The anaesthetic machine. *Anaesth Intensive Care Med*. 2013;14:94-8.

Brunborg G, Collins A. Guidance for publishing comet assay results. *Mutat Res*. 2020;854-855:503146.

Buhre W, Cerny V, De Hert S, Disma N, Habre W, Hendrickx J, et al. The current place of nitrous oxide in clinical practice: An expert opinion based

task force consensus statement of the European Society of Anaesthesiology. *Eur J Anaesthesiol.* 2015;32:517-20.

Burm AGL. Occupational hazard of inhalational anesthetics. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2003;17:147-61.

Caciari T, Capozzella A, Tomei F, Fiaschetti M, Schifano MP, Gioffrè PA, et al. Professional exposure to anaesthetic gases in health workers: estimate of some hepatic and renal tests. *Clin Ter.* 2013;164:e5-9.

Çakmak G, Eraydın D, Berkkan A, Yağar S, Burgaz S. Genetic damage of operating and recovery room personnel occupationally exposed to waste anaesthetic gases. *Hum Exp Toxicol.* 2019;38:3-10.

Casale T, Caciari T, Rosati MV, Gioffrè PA, Schifano MP, Capozzella A, et al. Anesthetic gases and occupationally exposed workers. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2014;37:267-74.

Cegin MB, Aslan M, Goktas U, Isik Y, Soyoral L, Aksoy N, et al. Serum myeloperoxidase (MPO) activity, oxidative and antioxidative parameters in operating room personnel. *J Pak Med Assoc.* 2016;66:666-70.

Chandrasekhar M, Rekhadevi PV, Sailaja N, Rahman MF, Reddy JP, Mahboob M, et al. Evaluation of genetic damage in operating room personnel exposed to anaesthetic gases. *Mutagenesis.* 2006;21:249-54.

Chinelato AR, Froes NDTC. Genotoxic effects on professionals exposed to inhalation anesthetics. *Rev Bras Anesthesiol.* 2002;52:79-85.

Choi SW, Yeung VTF, Collins AR, Benzie IFF. Redox-linked effects of green tea on DNA damage and repair, and influence of microsatellite polymorphism in HMOX-1: results of a human intervention trial. *Mutagenesis.* 2015;30:129-37.

Collins AR, Gaivão I. DNA base excision repair as a biomarker in molecular epidemiology studies. *Mol Aspects Med.* 2007;28:307-22.

Costa Paes ER, Braz MG, Lima JT, Gomes da Silva MR, Bentes de Sousa L, Lima ES, et al. DNA damage and antioxidant status in medical residents occupationally exposed to waste anesthetic gases. *Acta Cir Bras.* 2014;29:280-6.

Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta.* 2003;329:23-38.

Deng HB, Li FX, Cai YH, Xu SY. Waste anesthetic gas exposure and strategies for solution. *J Anesth.* 2018;32:269-82.

Desborough JP. The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth.* 2000;85:109-17.

Dinkova-Kostova AT, Abramov AY. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. *Free Radic Biol Med.* 2015;88:179-88.

Duarte LTD, Durval Neto GF, Mendes FF. Uso do óxido nítrico em pediatria. *Rev Bras Anesthesiol.* 2012;62:451-67.

Dusinska M, Collins AR. DNA oxidation, antioxidant effects, and DNA repair measured with the comet assay. In: Aldini G, Yeum KJ, Niki E, Russell RM, editors. *Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: principles and practical applications.* Ames: Wiley-Blackwell; 2010. p. 261-82.

Eisenach JH, Sprung J, Clark MM, Shanafelt TD, Johnson BD, Kruse TN, et al. The psychological and physiological effects of acute occupational stress in new anesthesiology residents: a pilot trial. *Anesthesiology.* 2014;121:878-93.

El-Ebiary AA, Abuelfadl AA, Sarhan NI, Othman MM. Assessment of genotoxicity risk in operation room personnel by the alkaline comet assay. *Hum Exp Toxicol.* 2013;32:563-70.

Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, Kietzmann T, Sánchez-Pérez P, Cadenas S, et al. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol.* 2015;6:183-97.

Ferreira AL, Machado PE, Matsubara LS. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and glutathione levels in human erythrocytes exposed to colloidal iron hydroxide in vitro. *Braz J Med Biol Res.* 1999;32:689-94.

Freire CMM, Braz MG, Marcondes JPC, Arruda MN, Braz JRC, Rainho CA, et al. Expression and promoter methylation status of two DNA repair genes in leukocytes from patients undergoing propofol or isoflurane anaesthesia. *Mutagenesis.* 2018;33:147-52.

Gan L, Johnson JA. Oxidative damage and the Nrf2-ARE pathway in neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1842:1208-18.

Garcia J, Issy A, Sakata R. Citocinas e Anestesia. *Rev Bras Anesthesiol.* 2002;52:86-100.

Gaya da Costa M, Kalmar AF, Struys MMRF. Inhaled anesthetics: environmental role, occupational risk, and clinical use. *J Clin Med*. 2021;10:1306.

Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*. 2000;29:1106-14.

Gomase VS, Tagore S. Toxicogenomics. *Curr Drug Metab*. 2008;9:250-4.

Graziola E, Elena G, Gobbo M, Mendez F, Colucci D, Puig N. Stress, hemodynamic and immunological responses to inhaled and intravenous anesthetic techniques for video-assisted laparoscopic cholecystectomy. *Rev Esp Anesthesiol Reanim*. 2005;52:208-16.

Gunasekarana V, Raj GV, Chand P. A comprehensive review on clinical applications of comet assay. *J Clin Diagn Res*. 2015;9:GE01-5.

Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutr Rev*. 2012;70:257-65.

Hanna M, Bryson GL. A long way to go: minimizing the carbon footprint from anesthetic gases. *Can J Anaesth*. 2019;66:838-39.

Health Care Without Harm - HCWH. The EU healthcare sector is a major contributor to the climate crisis [Internet]. Brussels: HCWH; 2019 [citado 7 Jul 2021]. Disponível em: <https://noharm-europe.org/articles/press-release/europe/eu-healthcare-sector-major-contributor-climate-crisis>

Hoetzel A, Geiger S, Loop T, Welle A, Schmidt R, Humar M, et al. Differential effects of volatile anesthetics on hepatic heme oxygenase-1 expression in the rat. *Anesthesiology*. 2002;97:1318-21.

Holmström KM, Baird L, Zhang Y, Hargreaves I, Chalasani A, Land JM, et al. Nrf2 impacts cellular bioenergetics by controlling substrate availability for mitochondrial respiration. *Biol Open*. 2013;2:761-70.

Hua HX, Deng HB, Huang XL, Ma CQ, Xu P, Cai YH, et al. Effects of occupational exposure to waste anesthetic gas on oxidative stress and DNA damage. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:8831535.

Huang Y, Li W, Su ZY, Kong AN. The complexity of the Nrf2 pathway: beyond the antioxidant response. *J Nutr Biochem*. 2015;26:1401-13.

Ishizawa Y. Special article: general anesthetic gases and the global environment. *Anesth Analg*. 2011;112:213-7.

Isolani L, Fiorentini C, Violante FS, Raffi GB. Short-term neurobehavioural effects in anaesthetists with low exposure to nitrous oxide. *Arh Hig Rada Toksikol.* 1999;50:381-8.

Iyama T, Wilson DM 3rd. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA Repair (Amst).* 2013;12:620-36.

Izdes S, Sardas S, Kadioglu E, Karakaya AE. DNA damage, glutathione, and total antioxidant capacity in anesthesia nurses. *Arch Environ Occup Health.* 2010;65:211-7.

Jafari A, Jafari F, Mohebbic I. Effects of occupational exposure to trace levels of halogenated anesthetics on the liver, kidney, and oxidative stress parameters in operating room personnel. *Toxin Rev.* 2018;39:242-51.

Jakobsson J. Desflurane: a clinical update of a third-generation inhaled anaesthetic. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2012;56:420-32.

Jalozzyński P, Kujawski M, Wasowicz M, Szulc R, Szyfter K. Genotoxicity of inhalation anesthetics halothane and isoflurane in human lymphocytes studied in vitro using the comet assay. *Mutat Res.* 1999;439:199-206.

Janssen K, Schlink K, Götte W, Hippler B, Kaina B, Oesch F. DNA repair activity of 8-oxoguanine DNA glycosylase 1 (OGG1) in human lymphocytes is not dependent on genetic polymorphism Ser326/Cys326. *Mutat Res.* 2001;486:207-16.

Kapugi M, Cunningham K. Corticosteroids. *Orthop Nurs.* 2019;38:336-9.

Kassam A, Horton J, Shoimer I, Patten S. Predictors of well-being in resident physicians: a descriptive and psychometric study. *J Grad Med Educ.* 2015;7:70-4.

Kolling DJ, Kratz JM, Barardi CRM, Simões CMO. Padronização in vitro da técnica do micronúcleo em células vero para detecção de genotoxicidade [Internet]. In: *Anais da 58a Reunião Anual da SBPC; 2001; Florianópolis.* Florianópolis: SBPC; 2001 [citado 10 Jun 2021]. Disponível em: http://www.sbpcnet.org.br/livro/58ra/senior/resumos/resumo_1406.html

Kudielka BM, Bellingrath S, Hellhammer DH. Further support for higher salivary cortisol levels in "morning" compared to "evening" persons. *J Psychosom Res.* 2007;62:595-6.

Kurosawa S, Kato M. Anesthetics, immune cells, and immune responses. *J Anesth.* 2008;22:263-77.

Landrigan PJ, Stegeman JJ, Fleming LE, Allemand D, Anderson DM, Backer LC, et al. Human health and ocean pollution. *Ann Glob Health*. 2020;86:151.

Langbein T, Sonntag H, Trapp D, Hoffmann A, Malms W, Röth EP, et al. Volatile anaesthetics and the atmosphere: atmospheric lifetimes and atmospheric effects of halothane, enflurane, isoflurane, desflurane and sevoflurane. *Br J Anaesth*. 1999;82:66-73.

Lin CJ, Barbosa AS. Técnicas de análise da regulação da transcrição gênica e suas aplicações na endocrinologia molecular. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002;46:330-4.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ method. *Methods*. 2001;25:402-8.

Lucchini R, Placidi D, Toffoletto F, Alessio L. Neurotoxicity in operating room personnel working with gaseous and nongaseous anesthesia. *Int Arch Occup Environ Health*. 1996;68:188-92.

Lucchini R, Belotti L, Cassitto MG, Faillace A, Margonari M, Micheloni G, et al. Neurobehavioral functions in operating theatre personnel: a multicenter study. *Med Lav*. 1997;88:396-405.

Lucio LMC, Braz MG, do Nascimento Junior P, Braz JRC, Braz LG. Riscos ocupacionais, danos no material genético e estresse oxidativo frente à exposição aos resíduos de gases anestésicos. *Rev Bras Anesthesiol*. 2018;68:33-41.

Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2013;53:401-26.

Magnavita N, Soave PM, Ricciardi W, Antonelli M. Occupational stress and mental health among anesthetists during the COVID-19 pandemic. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17:8245.

Mahoney FC, Moore PA, Baker EL, Letz R. Experimental nitrous oxide exposure as a model system for evaluating neurobehavioral tests. *Toxicology*. 1988;49:449-57.

Malekirad AA, Ranjbar A, Rahzani K, Kadkhodae M, Rezaie A, Taghavi B, et al. Oxidative stress in operating room personnel: occupational exposure to anesthetic gases. *Hum Exp Toxicol*. 2005;24:597-601.

Marana E, Russo A, Colicci S, Polidori L, Bevilacqua F, Viviani D, et al. Desflurane versus sevoflurane: a comparison on stress response. *Minerva Anesthesiol.* 2013;79:7-14.

Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* 2000;21:361-70.

McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 2000;108:652-9.

McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med.* 1998;338:171-9.

Migliore L, Coppedè F. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. *Mutat Res.* 2009;674:73-84.

Miyamoto S, Arai H, Terao J. Enzymatic antioxidant defenses. In: Aldini G, Yeum KJ, Niki E, Russell RM, editors. *Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: principles and practical applications.* Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 21-33.

Mutti A, Bergamaschi E, Ghittori S, Imbriani M, Franchini I. On the need of a sampling strategy in biological monitoring: the example of hexane exposure. *Int Arch Occup Environ Health.* 1993;65:S171-5.

Nagella AB, Ravishankar M, Hemanth Kumar VR. Anaesthesia practice and reproductive outcomes: facts unveiled. *Indian J Anaesth.* 2015;59:706-14.

Neghab M, Kargar-Shouroki F, Mozdarani H, Yousefinejad S, Alipour H, Fardid R. Association between genotoxic properties of inhalation anesthetics and oxidative stress biomarkers. *Toxicol Ind Health.* 2020a;36:454-66.

Neghab M, Amiri F, Soleimani E, Yousefinejad S, Hassanzadeh J. Toxic responses of the liver and kidneys following occupational exposure to anesthetic gases. *EXCLI J.* 2020b;19:418-29.

Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem.* 1997;43:1209-14.

Nilsson R, Bjordal C, Andersson M, Björdal J, Nyberg A, Welin B, et al. Health risks and occupational exposure to volatile anaesthetics: a review with a systematic approach. *J Clin Nurs.* 2005;14:173-86.

Nogueira FR, Braz LG, Souza KM, Aun AG, Arruda NM, Carvalho LR, et al. Comparison of DNA damage and oxidative stress in patients anesthetized with desflurane associated or not with nitrous oxide: a prospective randomized clinical trial. *Anesth Analg*. 2018;126:1198-205.

Obata R, Bito H, Ohmura M, Moriwaki G, Ikeuchi Y, Katoh T, et al. The effects of prolonged low-flow sevoflurane anesthesia on renal and hepatic function. *Anesth Analg*. 2000;91:1262-8.

Oliveira CRD. Exposição ocupacional a resíduos de gases anestésicos. *Rev Bras Anesthesiol*. 2009;59:110-24.

Paola A, Carlo L, Cinzia DR, Valter P, Pierluigi N. Stress response to surgery, anesthetics role impact on cognition. *J Anesth Clin Res*. 2015;6:1000539.

Perić M, Vranes Z, Marusić M. Immunological disturbances in anaesthetic personnel chronically exposed to high occupational concentrations of nitrous oxide and halothane. *Anaesthesia*. 1991;46:531-7.

Peruzzi C, Nascimento S, Gauer B, Nardi J, Sauer E, Göethel G, et al. Inflammatory and oxidative stress biomarkers at protein and molecular levels in workers occupationally exposed to crystalline silica. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019;26:1394-405.

Prielipp RC. An anesthesiologist's perspective on inhaled anesthesia decision-making. *Am J Health Syst Pharm*. 2010;67:S13-20.

Qu W, Du GL, Feng B, Shao H. Effects of oxidative stress on blood pressure and electrocardiogram findings in workers with occupational exposure to lead. *J Int Med Res*. 2019;47:2461-70.

Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010;49:1603-16.

Rohr P, Kvitko K, da Silva FR, Menezes AP, Porto C, Sarmiento M, et al. Genetic and oxidative damage of peripheral blood lymphocytes in workers with occupational exposure to coal. *Mutat Res*. 2013;758:23-8.

Ryan SM, Nielsen CJ. Global warming potential of inhaled anesthetics: application to clinical use. *Anesth Analg*. 2010;111:92-8.

Sanders RD, Weimann J, Maze M. Biologic effects of nitrous oxide: a mechanistic and toxicologic review. *Anesthesiology*. 2008;109:707-22.

Saraiva RA, Desflurano: propriedades físico-químicas, farmacologia e uso clínico. *Rev Bras Anesthesiol.* 2003;53:214-26.

Scapellato ML, Mastrangelo G, Fedeli U, Carrieri M, Maccà I, Scoizzato L, et al. A longitudinal study for investigating the exposure level of anesthetics that impairs neurobehavioral performance. *Neurotoxicology.* 2008;29:116-23.

Schafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med.* 2001;30:1191-212.

Sherif IO. The effect of natural antioxidants in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity: role of Nrf2/HO1 pathway. *Int Immunopharmacol.* 2018;61:29-36.

Sherman JD, Berkow L. Scaling up inhaled anesthetic practice improvement: the role of environmental sustainability metrics. *Anesth Analg.* 2019;128:1060-2.

Shirangi A, Fritschi L, Holman CD. Maternal occupational exposures and risk of spontaneous abortion in veterinary practice. *Occup Environ Med.* 2008;65:719-25.

Shirangi A, Fritschi L, Holman CD. Associations of unscavenged anesthetic gases and long working hours with preterm delivery in female veterinarians. *Obstet Gynecol.* 2009;113:1008-17.

Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 1988;175:184-91.

Sivaci R, Kahraman A, Serteser M, Sahin DA, Dilek ON. Cytotoxic effects of volatile anesthetics with free radicals undergoing laparoscopic surgery. *Clin Biochem.* 2006;39:293-8.

Soares MP, Bach FH. Heme oxygenase-1: from biology to therapeutic potential. *Trends Mol Med.* 2009;15:50-8.

Soares SE. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev Nutr.* 2002;15:71-81.

Soubhia AF, Lauz S, Montero EF, Menezes A, Mespague LB, Facin E. Effects of the inhalational anesthetics halothane and sevoflurane on an experimental model of hepatic injury. *Rev Bras Anesthesiol.* 2011;61:591-603.

Souza KM, Braz LG, Nogueira FR, Souza MB, Bincoletto LF, Aun AG, et al. Occupational exposure to anesthetics leads to genomic instability, cytotoxicity and proliferative changes. *Mutat Res.* 2016;791-792:42-8.

Souza KM, De Vivo I, Chen CY, Nogueira FR, Aun AG, Arruda NM, et al. Oxidative stress, DNA damage, inflammation and gene expression in occupationally exposed university hospital anesthesia providers. *Environ Mol Mutagen.* 2021;62:155-64.

Stachnik J. Inhaled anesthetic agents. *Am J Health Syst Pharm.* 2006;63:623-34.

Szyfter K, Stachecki I, Kostrzewska-Poczekaj M, Szaumkessel M, Szyfter-Harris J, Sobczyński P. Exposure to volatile anaesthetics is not followed by a massive induction of single-strand DNA breaks in operation theatre personnel. *J Appl Genet.* 2016;57:343-8.

Tankó B, Molnár L, Fülesdi B, Molnár C. Occupational hazards of halogenated volatile anesthetics and their prevention: review of the literature. *J Anesth Clin Res.* 2014;5:2-7.

Tatum VL, Changchit C, Chow CK. Measurement of malondialdehyde by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Lipids.* 1990;25:226-9.

Türkan H, Aydin A, Sayal A. Effect of volatile anesthetics on oxidative stress due to occupational exposure. *World J Surg.* 2005;29:540-2.

United States of America - Department of Labor. Occupational Safety and Health Administration - OSHA. Anesthetic gases: guidelines for workplace exposures. Washington: OSHA; 2000.

United State of America - National Institute for Occupational Safety and Health - NIOSH. Recommendations for Occupational Safety and Health. Compendium of policy documents and statements. Cincinnati: Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Center for Disease Control; 1992. (Publication; n. 92-100).

United State of America - National Institute for Occupational Safety and Health - NIOSH. Waste anesthetic gases: occupational hazards in hospitals. Cincinnati: Department of Health, Education, and Welfare, Center for Disease Control; 2007. (Publication n. 2007-151).

United State of America. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. Drinking levels defined [Internet]. Bethesda: NIAAA; 2015

[citado 31 Mar 2021]. Disponível em: <http://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/overview-alcohol-consumption/moderate-binge-drinking>

Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura BF, Manfredin V, Benfato S, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova*. 2007;30:1323-38.

Wiesner G, Hoerauf K, Schroegendorfer K, Sobczynski P, Harth M, Ruediger HW. High-level, but not low-level, occupational exposure to inhaled anesthetics is associated with genotoxicity in the micronucleus assay. *Anesth Analg*. 2001;92:118-22.

Wilson DM 3rd, Bohr VA. The mechanics of base excision repair, and its relationship to aging and disease. *DNA Repair (Amst)*. 2007;6:544-59.

Wolverson A, Nathanson MH. Volatile versus intravenous anaesthetic techniques for ambulatory anaesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol*. 1998;11:595-600.

Wrońska-Nofer T, Palus J, Krajewski W, Jajte J, Kucharska M, Stetkiewicz J, et al. DNA damage induced by nitrous oxide: study in medical personnel of operating rooms. *Mutat Res*. 2009;666:39-43.

Wrońska-Nofer T, Nofer JR, Jajte J, Dziubaltowska E, Szymczak W, Krajewski W, et al. Oxidative DNA damage and oxidative stress in subjects occupationally exposed to nitrous oxide (N₂O). *Mutat Res*. 2012;731:58-63.

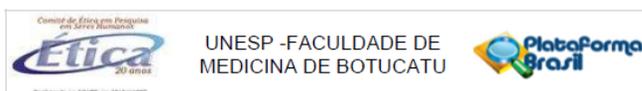
Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med*. 1976;15:212-6.

Young CJ, Apfelbaum JL. Inhalational anesthetics: desflurane and sevoflurane. *J Clin Anesth*. 1995;7:564-77.

Zaha A, Ferreira HB, Passaglia LMP. *Biologia molecular básica*. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2014.

ANEXO A

Aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Monitoramento genético e de balanço redox em médicos residentes ocupacionalmente expostos aos anestésicos inalatórios

Sub-Projeto I: Avaliação neuro-imune-endócrina em profissionais expostos aos resíduos de gases anestésicos durante a residência médica

Pesquisador: Aline Garcia Aun

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 40494115.6.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Anestesiologia

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.261.832

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de subprojeto apresentado em continuidade a pesquisa, relevante e factível.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta-se TCLE com informações claras, especialmente tendo em vista os sujeitos a que se propõe.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendo aprovação

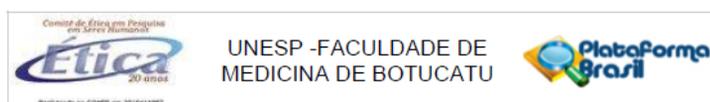
Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP em reunião de 04/09/2017 APROVA:

Endereço: Chácara Butignoli , s/n	CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior	
UF: SP Município: BOTUCATU	
Telefone: (14)3880-1608	E-mail: capellup@fmb.unesp.br

ANEXO B

Aprovação de Mudança de Título pelo Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Monitoramento genético e de balanço redox em médicos residentes ocupacionalmente expostos aos anestésicos inalatórios

Sub-Projeto I: Avaliação neuro-imune-endócrina em profissionais expostos aos resíduos de gases anestésicos durante a residência médica

Pesquisador: Aline Garcia Aun

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 40494115.6.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Anestesiologia

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros

Detalhe: Alteração de título

Justificativa: A alteração de título esta sendo solicitada para afins acadêmicos visando ser mais

Data do Envio: 13/10/2020

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.404.099

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO ORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO da Notificação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO ORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 09/11/2020, a Notificação encontra-se APROVADA. O Pesquisador deverá enviar Relatório Final de Atividades ao final da pesquisa.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	declaracao_de_alteracao_de_titulo_doc x	13/10/2020 19:15:39	Aline Garcia Aun	Postado
Outros	Relatorio_final_de_atividades_Mudanca de_titulo.doc	13/10/2020 19:16:02	Aline Garcia Aun	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 17 de Novembro de 2020

Assinado por:

SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador(a))

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) RESOLUÇÃO 466/2012

Convido, o(a) senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado “Avaliação neuro-imune-endócrina em profissionais expostos aos resíduos de gases anestésicos durante a residência médica”, que será desenvolvido por mim Aline Garcia Aun (Biomédica) sob orientação da Profa Dra Mariana Gobbo Braz (Biomédica) na Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, que pretende avaliar se os anestésicos voláteis podem promover possíveis efeitos tóxicos no organismo de profissionais expostos (residentes médicos atuantes em centro cirúrgico), seja em nível molecular (integridade do DNA), celular ou sistêmico.

O(A) sr(a) foi selecionado(a) a participar dessa pesquisa devido a sua formação e atuação na medicina, pois o estudo será realizado em médicos adultos aprovados em residência médica (anestesiologia ou qualquer área cirúrgica), de ambos os sexos, que serão expostos ocupacionalmente aos resíduos de gases anestésicos devido a atuação no centro cirúrgico. Serão excluídos do estudo os portadores de doença e os indivíduos que realizaram residência médica prévia em anestesiologia ou cirurgia ou área radiológica.

Será realizado um questionário contendo dados pessoais (nome, data de nascimento, sexo, peso, altura, etc), estilo de vida (alimentação, prática de exercícios físicos, exposição a substâncias tóxicas, uso de bebida alcoólica,

tabaco e drogas ilícitas, etc) e história médica (uso de medicamentos e suplementos vitamínicos, doenças, etc); todas as informações são de caráter confidencial e sua identidade será preservada. O questionário durará cerca de 30 minutos e será aplicado pela própria pesquisadora com agendamento prévio por meio de contato telefônico. Durante a aplicação do questionário não será utilizado qualquer tipo de recurso para armazenamento de imagem ou voz. As informações relatadas pelo(a) sr(a) serão transcritas e armazenadas para o fornecimento de dados complementares durante a análise dos resultados da pesquisa.

Desta forma, solicitamos seu consentimento para que, logo após a entrevista, pela manhã, em jejum de 12 horas, seja coletada uma amostra de 26 ml de sangue periférico, a qual ocorrerá em sete momentos distintos, com intervalo de seis meses para a próxima coleta ao longo da pesquisa, que tem duração total de três anos. A coleta será realizada por profissional experiente e o procedimento causa apenas o desconforto da picada com risco mínimo, já que será utilizado material estéril e descartável. A participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução Nº 466/12.

A realização desta pesquisa permitirá a possível melhoria das condições de trabalho no centro cirúrgico no sentido de minimizar os possíveis efeitos tóxicos causados pelos resíduos de gases anestésicos.

Caso o(a) sr(a) não queira participar da pesquisa, é seu direito e não haverá nenhum prejuízo. O(A) sr(a) poderá retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa sem nenhum prejuízo. Se houver interesse, o(a) sr(a) poderá consultar o andamento da pesquisa solicitando informações por meio do telefone ou e-mail da pesquisadora do projeto e, se necessário por meio do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descrito:

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, CONCORDO EM PARTICIPAR de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, sem no entanto, que minha identidade seja revelada.

CONCORDO EM PARTICIPAR DA PESQUISA

Nome: _____

Assinatura: _____

Data: ____/____/____

Pesquisadora: Aline Garcia Aun

Fone: (14) 99617-1409

Assinatura: _____

E-mail: aline.aun@hotmail.com

Orientadora: Mariana Gobbo Braz, Departamento de Anestesiologia,
Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, Distrito de Rubião Júnior, s/n,
Botucatu-SP. Fone: (14) 3880-1650

E-mail: mgbraz@fmb.unesp.br

APÊNDICE B

QUESTIONÁRIO

Avaliação neuro-imune-endócrina em profissionais expostos aos
resíduos de gases anestésicos durante a residência médica

Registro hospitalar (se houver): _____

Código do indivíduo no estudo: _____

Data ____/____/____

Momento do Estudo: _____

I – Identificação

01-

Nome: _____

02-Sexo: masculino feminino

03-Raça: branca amarela parda negra outra:

04-Data nascimento ____/____/____

05-Idade: _____

06-Peso: _____

07-Altura: _____

08-IMC (índice de massa corpórea): _____

09-Origem (cidade e estado): _____

II – Informações gerais e coleta da amostra biológica

10-Tem alguma doença?

sim não

10.1 - Se sim, qual?: _____

10.2 - Quando foi diagnosticado?: _____

10.3 - Fez tratamento? () sim () não

10.4 - Radioterapia? () sim () não

10.5 - Quimioterapia? () sim () não

10.6 – Finalizou o tratamento? () sim () não

10.7 – Quando finalizou o tratamento? () sim () não

11- Já teve alguma doença maligna (câncer)?

() sim () não

11.1 - Se sim, qual?: _____

11.2 - Quando foi diagnosticado?: _____

11.3 - Fez tratamento? () sim () não

11.4 - Radioterapia? () sim () não

11.5 - Quimioterapia? () sim () não

11.6 – Finalizou o tratamento? () sim () não

11.7 – Quando finalizou o tratamento? () sim () não

12- Já fez residência médica previamente?

() sim () não

12.1 - Se sim, em qual área?: _____

12.2 - Por quanto tempo?: _____

12.3 - Em que ano terminou?: _____

13- Em qual residência médica passou na Faculdade de Medicina de Botucatu? _____

14- Dormiu bem esta noite?

sim não passou a noite trabalhando

15- Está de jejum de 12 h?

sim não

6.1 - Em caso negativo, relatar:_____

16- Considera sua alimentação saudável?

sim não

17- Qual a frequência de realização das refeições diárias? (Assinalar na tabela abaixo)

Refeição	Frequência		
	Diariamente	Não Faz	Irregularmente
Café da manhã			
Lanche da manhã			
Almoço			
Lanche da tarde			
Jantar			
Ceia			

18- Qual o consumo alimentar? (Assinalar na tabela abaixo)

Alimento	Todos os dias	2 a 3 vezes por semana	1 a 2 vezes por mês	Rara / Nunca
Frutas				
Folhosos				
Legumes				
Leite e Derivados				
Ovos				
Carne Bovina				
Carne de Porco				
Galinha				
Peixe				
Embutidos				
Feijão				
Arroz				
Macarrão				
Pão				
Bolacha				
Doces				
Balas e chicletes				
Frituras				
Salgados assados				
Sanduíches				
Refrigerante				
Suco natural				

Suco artificial				
Café				

19- Qual o consumo de água diário:

() 1 a 3 copos () 4 a 6 copos () 7 ou mais copos

*considera-se a medida aproximada de 250 ml por copo

20- Faz exercícios físicos regularmente? () sim () não

20.1-Se sim, qual tipo (musculação, caminhada, pilates etc)?_____

20.2-Se sim, quantas vezes por semana?_____

21- Fuma?

() Sim () Não

21.1- Há quanto tempo?_____

21.2 - Quantos cigarros/dia:

() menos de meio maço () de meio a um maço

() 1 a 2 maços () mais de 2 maços

21.3 - Qual tipo (cachimbo, charuto, palha, papel com filtro, sem filtro, etc)?: _____

22- Já fumou alguma vez?

() Sim () Não

22.1-Quantos cigarros/dia fumava:

() menos de meio maço () de meio a um maço

() 1 a 2 maços () mais de 2 maços

() apenas experimentou

*maço = 20 cigarros/dia

22.2-Durante quanto tempo fumou
(meses/anos)? _____

22.3-Qual tipo (cachimbo, charuto, palha, papel com filtro, sem filtro, etc)?: _____

23- Fuma ou já fumou alguma substância utilizando o cachimbo tipo Narguile?

() sim () não Qual substância?

23.1- Com que frequência/quantas vezes fumou?

24- Consome bebida alcoólica? () sim () não

24.1- Se sim, quantas vezes por semana:

() somente aos finais de semana () somente em eventos

sociais

() 1 a 3 dias () 4 ou mais dias

24.2 - Se sim, quanto doses por semana:

() até 2 doses () de 3 a 4 doses () de 5 a 6 doses

() de 7 a 9 doses () acima de 10 doses

*considera-se a 1 dose: meia garrafa ou 1 lata de cerveja, 1 cálice de vinho ou 1 dose de bebidas destiladas (aguardente, whisky, etc)

24.3 - Qual tipo de bebida (cachaça, cerveja, whisky, vinho, etc)? _____

25- Já consumiu bebida alcoólica?

() sim () não

26- Há quanto tempo deixou de beber? _____

27- Consome drogas?

() sim () não

27.1 - Se sim, qual tipo e por qual via? _____

27.2 - Há quanto tempo? _____

28- Já consumiu algum tipo de droga?

() sim () não

28.1- Se sim, qual tipo e por qual via? _____

28.2 - Há quanto tempo? _____

29- Tem contato com substâncias tóxicas?

() sim () não

29.1- Se sim, qual (agrotóxicos, gasolina, tinta)? _____

29.2 - Há quanto tempo? _____

III - História Médica

30- Passou por algum estresse ultimamente?

sim não

31- Se sim, qual? _____

32- Foi submetido a raio X, tomografia ou escopia recentemente (no último mês)?

sim não

32.1-

Quando? _____

32.2- Sabe quantas chapas ou tomografias foram feitas? _____

33- Tem alguma doença (asma, hipertensão, diabetes, hepatite, lúpus, artrite, etc)?

sim não

33.1-

Qual? _____

34- Já teve alguma doença grave?

sim não

34.1- Se sim, qual? _____

34.2- Há quanto tempo? _____

35- Faz ou fez uso contínuo de algum tipo de medicamento, se sim, quais:

antibiótico anti-inflamatório analgésico

anti-hipertensivo corticóide anti-convulsivante

() insulina () hipoglicemiante () relaxantes
musculares

() hormônios () anti-histamínicos () tranquilizantes

() fitoterápicos () homeopáticos () inibidores de apetite

() antiácidos () outros – quais:

35.1- Frequência/dia: _____

36- Já fez uso de vitamina/antioxidante (complexo vitamínico)?

() sim () não

36.1- Se sim, qual (is)? _____

36.2- Frequência/dia: _____

36.3 - Há quanto tempo? _____

37- Faz uso de vitamina/antioxidante (complexo vitamínico)?

() sim () não

37.1- Se sim, qual (is)? _____

37.2 - Nome comercial:

37.2.1- Frequência/dia: _____

37.2.2 - Há quanto tempo? _____

38- Tomou alguma medicação no último mês (tratamento esporádico)?

() sim () não

38.1 - Se sim, qual (is)?

() antibiótico () anti-inflamatório () analgésico

() anti-hipertensivo () corticóide () anti-convulsivante

() insulina () hipoglicemiante () relaxantes
musculares

() hormônios () anti-histamínicos () tranquilizantes

() fitoterápicos () homeopáticos () inibidores de apetite

() antiácidos () outros – quais:

38.2 - Frequência/dia:_____

38.3 - Há quanto tempo parou?_____

39- Teve alguma infecção ou inflamação no último mês?

() sim () não

39.1- Se sim, qual
(is)?_____

39.2- Há quanto tempo
parou?_____

40- Está resfriado ou gripado?

() sim () não

41- Já fez alguma cirurgia?

() sim () não

41.1- Se sim, qual?_____

41.2- Se sim, quantas: _____

41.3- Há quanto tempo foi a última?_____

42- Já foi submetido a anestesia?

() sim () não

42.1- Se sim, sabe qual tipo de anestesia (local, geral, raquídea, regional)? _____

42.2 - Se sim para anestesia geral, sabe se recebeu anestesia inalatória?

() sim () não

Qual anestésico? _____

42.3 - Há quanto tempo? _____

43- Realizou exames hematológicos nos últimos 12 meses? Se sim, houve algum resultado fora dos padrões de normalidade?

() sim () não

Anormalidade encontrada: _____

IV – Atividade Profissional

44- Qual é a sua especialidade médica? _____

45- Qual é o principal hospital que você atua?

45.1 - Você faz plantões fora do expediente do local acima, em centro cirúrgico (final de semana ou de noite)? () sim () não

45.2 - Se sim, você é exposto aos anestésicos inalatórios? () sim
() não

45.3 - Frequência de exposição:

45.4 - Local do trabalho:

46- Em que ano de residência você se encontra?

primeiro segundo terceiro

outro: _____

47- Em relação à atuação na residência, há quanto tempo está atuando?

____ dias ____ meses ____ anos

48- Em relação à atuação no centro cirúrgico,

48.1- Quantas horas/dia? _____

48.2 - Quantas horas/semana (lembrar de eventuais plantões aos finais de semana)? _____

48.3 - Frequência mensal (dias): _____

49- Há quanto tempo está exposto aos anestésicos inalatórios?:

____ dias ____ meses ____ anos

50- Tem exposição à radiação (raio-X, tomografia, escopia)?

sim não

50.1 - Se sim, qual a frequência/semana? _____ horas _____ dias

50.2 - Quando se expõe usa proteção? não sim:

jaleco de chumbo

tireoide

tireoide e jaleco de chumbo

obs: _____

51- Atualmente realiza ou participa de mais anestesia inalatória ou venosa?

52- Qual a frequência (vezes e %) de cada anestesia (manutenção) por semana?

Venosa: _____

Inalatória: _____

obs: _____

53- Quando realiza ou participa de anestesia inalatória quais anestésicos são mais utilizados?

() isoflurano () desflurano () sevoflurano () não sabe ()

outro: _____

54- Sabe com que frequência (quantas vezes) e a % de utilização conjunta com o N₂O aos anestésicos (venosos ou inalatórios)?

55- Qual o fluxo (l/min) de gás fresco predominantemente utilizado durante a anestesia?

() Baixo (<1) _____

() Médio (1-2) _____

() Intermediário (2-4) _____

() Alto (> 4) _____

() Não sabe

56- Após um dia de trabalho no centro cirúrgico sente algum dos sintomas/sinais abaixo?

() sim () não

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> náusea | <input type="checkbox"/> fadiga |
| <input type="checkbox"/> cansaço extremo | <input type="checkbox"/> tontura |
| <input type="checkbox"/> cefaleia/enxaqueca | <input type="checkbox"/> agitação |
| <input type="checkbox"/> dificuldade de concentração | <input type="checkbox"/> baixo rendimento |
| <input type="checkbox"/> dificuldade para dormir/insônia | <input type="checkbox"/> sintomas depressivos |
| <input type="checkbox"/> infecções mais frequentes | <input type="checkbox"/> irritação das vias aéreas |
| <input type="checkbox"/> enjôo | <input type="checkbox"/> vômito |
| <input type="checkbox"/> sistema imunológico debilitado | <input type="checkbox"/> desânimo |
| <input type="checkbox"/> estafa/ <i>burnout</i> | <input type="checkbox"/> irritação |
| <input type="checkbox"/> sonolência | <input type="checkbox"/> memória fraca |
| <input type="checkbox"/> outros: _____ | |

56.1 - Se sim, qual a frequência semanal?

- 1 vez 2 vezes 3 vezes 4 vezes 5 vezes
 ≥ 6 vezes

56.2 - Quando começou a trabalhar no centro cirúrgico algum sintoma era mais frequente?

- sim não Se sim, qual (is):

56.3 - Quando as anestésias são em crianças os sintomas pioram?

- sim não Se sim, qual (is)?

56.4 - Sente que os sintomas diminuíram com o passar do tempo?

- sim não

56.5 - Se sim, quando diminuíram? _____

57- Tira férias anualmente?

() sim () não

57.1 Se sim, por quanto tempo:

() ≤ 15 dias () 30 dias () outro: _____

58- Durante o período de férias, continua tendo exposição aos anestésicos inalatórios?

() sim () não

Frequência: _____

59- Tirou férias ou se afastou do centro cirúrgico recentemente?

() sim () não período: _____

59.1 - Se sim, teve exposição aos anestésicos inalatórios?

() _____ dias () _____ semanas ()
_____ meses

59.2 - Se sim, há quanto tempo não está mais exposto aos gases anestésicos?

() dias () meses obs: _____

60- Realizou estágio fora de Botucatu e ficou sem exposição aos anestésicos inalatórios? () sim () não período:

61- Tem sido exposto aos anestésicos inalatórios no último mês?

() sim () não Quantas vezes:

62 -Teve exposição aos anestésicos inalatórios no dia de ontem ou nesta madrugada?

() sim () não

Se sim, por quanto tempo? _____

62.1- Se sim, qual(is) anestésico(s)?

() N₂O () isoflurano () desflurano () sevoflurano

62- Ao longo da residência médica (desde a coleta anterior):

62.1 - Ficou doente? () sim () não obs:

62.2 - Sofreu acidente? () sim () não obs:

62.3 – Foi operado sob anestesia geral inalatória? () sim

() não obs: _____

62.4 - Teve algum estresse grave? () sim () não obs:

62.5 - Teve algum acidente com perfuro-cortante? () sim () não

obs: _____

63- Gostaria de acrescentar alguma informação que considere importante?

Se homem:

64-Tem filhos?

sim não

64.1 - Se sim, sua parceira demorou para engravidar? sim (
 não

64.2 - Se sim, precisou de algum tratamento para engravidar? sim
 não

64.3 - Se sim, algum apresenta algum tipo de problema?
 sim não

Se sim, qual (is): _____

64.4 - Se sim, sua parceira teve algum problema com a gestação? ()
sim não

Se sim, qual (is): _____

64.5 - Se não, sua parceira já tentou engravidar? sim (
 não

Se sim, há quanto tempo estão tentando engravidar?

64.6 - Fez ou faz algum tipo de tratamento para engravidar?
 sim não

Se sim, qual (is): _____

Há quanto tempo? _____

65- Sabe se sua parceira já teve algum aborto espontâneo? sim não

Se sim, quantos: _____

Há quanto tempo: _____

66- Sua parceira tem alguma exposição ocupacional? () sim () não

Se sim, qual: _____

67- Sabe se você ou sua parceira tem algum problema de infertilidade?

() sim () não

Se mulher:

68- Tem ciclo menstrual regular?

() sim () não

68.1 - Se não, sabe a causa? _____

68.2 - Sabe em que fase do ciclo está? _____

69- Está de TPM ou menstruada? _____

70- Faz uso de anticoncepcional?

() sim () não

70.1- Se sim, que tipo:

() oral () injetável () adesivo transdérmico

() implante subcutâneo () outros: _____

Nome comercial: _____

70.2 - Se sim, há quanto tempo? _____

71- Faz algum tipo de reposição hormonal?

() sim () não

71.1- Se sim, que tipo:

() oral () injetável () adesivo transdérmico

() implante subcutâneo () outros:

71.2 - Se sim, há quanto tempo?

72- Tem filhos?

() sim () não

72.1- Se sim, demorou para engravidar? () sim () não

72.2 - Se sim, precisou de algum tratamento para engravidar? () sim () não

72.3 - Se sim, algum apresenta algum tipo de problema?

() sim () não

Se sim, qual (is): _____

72.4 - Se sim, teve algum problema com a gestação? () sim () não

Se sim, qual (is): _____

72.5 - Se não, já tentou engravidar? () sim () não

72.6 - Se sim, há quanto tempo está tentando engravidar?

72.7 - Fez ou faz algum tipo de tratamento para engravidar? () sim () não

Se sim, qual (is): _____

Há quanto tempo? _____

73- Sabe se já teve algum aborto espontâneo durante a residência ou em momento anterior?

() sim () não

obs: _____

73.1 - Se sim, quantos: _____

73.2 - Há quanto tempo: _____

74- Se tiver parceiro(a), sabe se tem alguma exposição ocupacional?

() sim () não

74.1 - Se sim, qual: _____

75- Sabe se você ou seu (sua) parceiro (a) tem algum problema de infertilidade?

() sim () não