

AVALIAÇÃO ESPERMÁTICA EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À EXPOSIÇÃO CRÔNICA DE SEVOFLUORANO

CATIANE PRESTES DOS SANTOS¹; SABRINA KOHLS DE ARAUJO²; ANTÔNIO SERGIO VARELA JUNIOR²; MARTIELO IVAN GEHRCKE²; IZANI BONEL ACOSTA²; CARINE DAHL CORCINI³

¹Universidade Federal de Pelotas – catianeprestes@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas

³Universidade Federal de Pelotas – cdcorcini@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Gases anestésicos residuais (Waste Anesthetic Gases - WAGs), são pequenas quantidades de anestésicos inalatórios presentes principalmente no ar de salas cirúrgicas ou salas de recuperação. Anestésicos halogenados como isofluorano e sevofluorano são os principais constituintes dos WAGs por sua ampla utilização na rotina médica (NIOSH, 2007).

A emissão de resíduos de anestésicos inalatórios pode ser resultado de diversos fatores como falhas no equipamento de anestesia, escape pela sonda endotraqueal utilizada no paciente, balonete não inflado totalmente (OLIVEIRA 2009; CCOHS, 2007), ou a falta/má eficiência de equipamentos como ar-condicionado, e sistemas de limpeza de ar específicos para resíduos anestésicos (DA COSTA et al, 2021; KRAJEWISKY et al, 2007).

A National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) recomenda uma exposição limite de 2 partes por milhão (ppm) em um período de 1h (NIOSH, 2007). A American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) propôs em 2022 uma concentração máxima de 50 ppm de isofluorano, enquanto o sevofluorano se encontra diretrizes apenas em alguns países como Finlândia, Noruega, Dinamarca, Polónia, Israel e Suécia, que varia de 5 ppm até 20 ppm (VARUGHESE & BACHER, 2020; ACGIH; 2022; IFA GESTIS, 2015). No Brasil atualmente não existem normativas específicas à exposição de resíduos anestésicos, sendo seguida as recomendações internacionais.

Os efeitos da exposição ocupacional de resíduos anestésicos podem gerar em impacto significativo da saúde reprodutiva (DING, et al, 2015; KAYA et al, 2013), em vista disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência do sevofluorano na qualidade espermática de camundongos machos expostos de forma crônica a concentrações não anestésicas de sevofluorano.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido na Universidade Federal de Pelotas (UPPel) após aprovação do Comitê de Ética sob número 23110.022342/2023-33. Foram utilizados 30 camundongos machos, swiss albino, com 6 semanas de vida. Os animais permaneceram 7 dias em aclimatação no Biotério da UPPel recendo ração de acordo com a idade e espécie, água *ad libitum* e ciclo de iluminação 12 horas claro, 12 horas escuro. Os camundongos foram divididos aleatoriamente em dois grupos de dez indivíduos cada, grupo controle (G0) e grupo exposição (G1).

Os grupos G0 e G1 foram acomodados durante 20 dias consecutivos, 5 horas por dia, em uma caixa acrílica de 28 litros (L) com entrada e saída de ar através de um orifício de 2 centímetros, sendo abertura da caixa coberta por filme plástico. O grupo G0 foi exposto apenas a oxigênio em uma taxa de 1 L/minuto, enquanto o grupo G1 além do oxigênio foi exposto ao sevoflurano na concentração de 25 ppm, padronizada previamente após testes com equipamento de detecção infravermelha. Ao final do estudo todos os animais foram eutanasiados através de deslocamento cervical.

Após a eutanásia, foi realizado laparotomia de todos os animais e coleta do epidídimo e cauda, após removido, as estruturas foram alocadas em uma placa de 12 poços contendo 500µl de Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS), previamente aquecido e mantido à 37°C. As estruturas anatômicas foram rompidas através de uma agulha 30G para a obtenção do esperma (CORCINI; et. al, 2010); cerca de 3µl da amostra foram utilizadas para a leitura e avaliação espermática através do Computer- assisted sperm analysis (CASA – SpermVision®).

A análise estatística foi realizada pelo programa Statistix® 10.0, através da comparação de médias pelo teste Tukey, onde o valor $p < 0,05$ foi considerado como diferença estatística.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo demonstrou que os animais expostos ao sevoflurano obtiveram uma motilidade e progressão geral diminuídas quando comparadas ao grupo controle. A motilidade e progressão do G0 apresentou um valor de 47% e 29,9% da amostra, respectivamente, enquanto o G1 obteve 39%, e sua progressão e 21,6%.

Ainda não está elucidado o mecanismo de ação dos anestésicos halogenados, como o sevoflurano, na motilidade espermática. De acordo com CALOGERO (1999) os anestésicos podem atuar em receptores ácido gama-aminobutírico (GABA), desencadeando seus efeitos inibitórios nos receptores dos espermatozoides, assim reduzindo sua motilidade.

Em um recente trabalho realizado por ZHANG et al. (2023), onde os animais foram anestesiados com sevoflurano a 3% CAM por 6 horas, aponta a possível correlação do sevoflurano com alterações no metabolismo do ferro, o qual participa diretamente no processo de espermatogênese, assim, diminuindo a motilidade espermática e outros parâmetros. Além disso, é levantada a hipótese do sevoflurano diminuir o fluxo de oxigênio, inibindo o transporte de elétrons e os níveis de ATP, podendo explicar a baixa mobilidade dos espermatozoides.

Alguns trabalhos demonstram os mesmos resultados apresentados neste trabalho, como o realizado por KAYA et al. (2013), onde ratos wistar-albino adultos machos foram expostos a concentrações de 1 Concentração Alveolar Mínima (CAM) por 2 horas por dia durante 7 e 14 dias, obteve-se nos parâmetros de motilidade uma diminuição significativa em comparação ao grupo controle.

CEYAN e colaboradores (2005) utilizou coelhos em uma exposição de 1.2 CAM durante 4 horas por 5 dias, realizando coleta de sêmen através de uma vagina artificial nos dias 12^o, 26^o, 33^o e 41^o pós exposição. Seus resultados também demonstraram uma diminuição da motilidade em relação ao grupo controle mesmo dias após a exposição.

Outro estudo realizado com camundongos expostos ao sevoflurano evidencia a sua influência não só na motilidade como em parâmetros hormonais e de histológicos, como o apresentado por YANHONG et al. (2019), utilizando

diferentes concentrações do anestésico, 50, 300 e 1800 ppm, 2h por dia durante 15 dias, apresentaram redução na produção espermática dose dependente, uma diminuição da produção de testosterona e atrofia nos túbulos seminíferos e apoptose das células espermáticas.

4. CONCLUSÕES

O resultado deste estudo demonstra que a exposição crônica ao sevoflurano à 25 ppm reduziu significativamente a motilidade geral e progressão espermática de camundongos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACGIH. Threshold Limit Values (TLVs®) and Biological Exposure Indices (BEIs®) **ACGIH**, p.1–298, 2022.

CALOGERO, A.E., BURELLO, N., FERRARA, E., HALL, J., FISHEL, S., D'AGATA, R. c-Aminobutyric acid (GABA) a and b receptors mediate the stimulatory effects of GABA on the human sperm acrosome reaction: interaction with progesterone. **Fertility and Sterility**, v. 71, p. 930–936, 1999.

CCOHS Waste Anesthetic Gases, Hazards of. 2007. Acessado em 19 de setembro de 2024. Disponível em: https://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/waste_anesthetic.html.

CEYAHAN, M., CINCIK, S., BEDIR, H., USTUN, G., DAGLI, H., KALENDER, H. Effects of exposure to new inhalation anesthetics on spermatogenesis and sperm morphology in rabbits. **Archives of Andrology**, v. 51, p.305–315, 2005.

CORCINI, C.D.; JUNIOR, A. S. V.; RICARDI, L. M. P.; PANZARDI, A.; DESCHAMPS, J. C.; JUNIOR, T. L. Técnicas de coleta seminal em *Mus musculus* – linhagem Swiss Albina. **PUBVET**, v.4, n.21, p.850–857, 2010.

DA COSTA M.G., KALMAR A.F., STUYS M.M.R.F. Inhaled Anesthetics: Environmental Role, Occupational Risk, and Clinical Use. **Journal of Clinical Medicine**. v.10, p.1306, 2021.

DING Y., YU, J. QU P, MA, P, YU, Z. The negative effects of chronic exposure to isoflurane on spermatogenesis via breaking the hypothalamus-pituitary gonadal equilibrium. **Inhalation Toxicology**, v. 27, p. 621–628, 2015.

IFA GESTIS International Limit Values GESTIS International Limit Values. 2015. Acessado em 20 setembro 2024. Disponível em: <https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-internationale-grenzwerte-fuer-chemische-substanzen-limit-values-for-chemical-agents/index-2.jsp>

KAYA, Z., SOGUT, E., CAYLI, S., SUREN, M., ARICI, S., KARAMAN, S., ERDEMIR, F. Evaluation of effects of repeated sevoflurane exposure on rat testicular tissue and reproductive hormones. **Inhalation Toxicology**, v. 25, p. 192–198, 2013.

KRAJEWSKI W., KUCHARSKA M., WESOLOWSKI W., STETKIEWICZ J., WRONSKA-NOFER T. Occupational exposure to nitrous oxide—The role of scavenging and ventilation systems in reducing the exposure level in operating rooms. **Intenacional Journey of Hygiene and Environmental Health**. v.210, p.133–138, 2007.

NIOSH . The National Institute for Occupational Safety and Health of The United States of America. **Waste anesthetic gases: occupational hazards in hospitals**, 2007.

OLIVEIRA C.R.D. Occupational exposure to anesthetic gases residue. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v.59, p 110-124, 2009.

VARUGHESE, S., BACHER, H.P. Validation of Waste Anaesthetic Gas Exposure Limits When Using a Closed Vaporizer Filling System: A Laboratory-Based Study. **Advances in Therapy**, v. 37, p.450–456, 2020.

YANHONG, C., JINGYING, L., YULIN, Z., KUN, X., JINGUI, Y., LINGZHI, Y., YANHAO, W. Effects of sevoflurane on reproductive function of male rats and its main mechanism of action, **Inhalation Toxicology**, v. 31, p. 392-398, 2019.

ZHANG, X, ZUO, Y., ZHANG, J., ZHANG, D., NAEEM, M., CHANG, Y., SHI, Z. Sevoflurane inhibited reproductive function in male mice by reducing oxidative phosphorylation through inducing iron deficiency. **Frontiers in Cell Development and Biology**, Sec. Molecular and Cellular Reproduction, v. 11, 2023.