

## ANÁLISE DE CÉLULAS SANGÜÍNEA DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À EXPOSIÇÃO CRÔNICA AO SEVOFLURANO

SABRINA KOHLS DE ARAUJO<sup>1</sup>; CATIANE PRESTES DOS SANTOS<sup>2</sup>; IZANI BONEL ACOSTA<sup>2</sup>; CARINE DAHL CORCINI<sup>2</sup>; MARTIELO IVAN GERCKE<sup>2</sup>; ANTONIO SERGIO VARELA JUNIOR<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [saakohls@gmail.com](mailto:saakohls@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [catianeprestes@gmail.com](mailto:catianeprestes@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [izanibonel@hotmail.com](mailto:izanibonel@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [ccorcini@ufpel.edu.br](mailto:ccorcini@ufpel.edu.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [martielogercke@hotmail.com](mailto:martielogercke@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal do Rio Grande – [varelajras@gmail.com](mailto:varelajras@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O surgimento do crescente número de procedimentos cirurgicos em muitas clínicas e hospitais, resultou na ampliação do uso de anestésicos inalatórios. No entanto, além dos indivíduos submetidos a anestesia geral, os profissionais que atuam nesses ambientes também ficam expostos a esses agentes, o que resulta em uma preocupação com os possíveis danos que essa exposição ocupacional podem gerar na saúde humana (Aun et al. 2021).

De acordo com Cesarovic (2010), o sevoflurano é um dos anestésicos mais usado em humanos, pois apresenta mínimo odor, é um potente broncodilatador e apresenta indução e recuperação anestésica suave e rápida (MILLER, 2015). Contudo, esse agente é considerado um dos anestésicos halogenados que mais compõem a formação dos Resíduos de Gases Anestésicos (RGA), os quais são classificados como pequenas quantidades de anestésicos inalatórios presentes principalmente no ar de ambiente das salas de cirurgias e recuperação anestésica (NIOSH, 2007).

Recentemente, estima-se que aproximadamente 13% da população em idade reprodutiva enfrentam complicações de fertilidade, e fatores masculinos tendem a contribuir para até 30% deles (Ricci et al. 2017). A exposição materna à anestesia geral está relacionada ao transtorno do espectro autista fetal (Houck et al. 2023), e além disso, estudos vem demonstrado que a exposição contínua aos agentes anestésicos pode resultar em aborto espontâneo, mutagênese congênita de células germinativas e alterações morfológicas de células espermáticas (Kaymak et al. 2012).

Resalta-se também que altas concentrações de anestésicos inalatórios em salas cirúrgicas têm sido associadas a danos citogenéticos e respostas inflamatórias em profissionais expostos (Figueiredo et al. 2022), além de estudos com camundongos, apontarem que a exposição à anestesia com sevofurano pode acrescer o risco de disfunção cognitiva em adultos (Dai et al., 2020). Assim, o presente estudo, visa analisar o efeito que a exposição crônica ao sevoflurano gera sobre as análises sanguíneas de camundongos, abordando seu efeito após 20 dias de exposição.

## 2. METODOLOGIA

Foram utilizados 20 fêmeas adultas de *Mus musculus*, linhagem Swiss Albina, com idade entre 70 dias de vida, onde ambos os camundongos foram adquiridos no biotério da Universidade Federal de Pelotas – Campus Capão do Leão. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).

Para a realização do experimento, os camundongos foram divididos aleatoriamente em dois grupos ( $n = 10$  cada), onde estes foram submetidos ao período de aclimação durante 7 dias no biotério, sendo mantidos em caixas de polipropileno correspondentes a cada grupo experimental, com cama de maravalha, luminosidade de 12E/12C, com dieta alimentar comercial peletizada específica para camundongos (fornecida pelo biotério) e água à vontade.

Durante os 20 dias do experimento, ao início de cada exposição (5 horas/dia), os animais do grupo controle e do grupo crônico eram condicionados separadamente em caixas de acrílico de 21,6 litros, identificadas e contendo dois orifícios para entrada e saída de ar, bem como uma de suas extremidades removível, possibilitando a abertura da caixa para entrada e saída dos animais.

O grupo controle foi mantido na caixa de exposição somente com oxigênio a 1 litro por minuto (lpm) durante as 5h/dia, sem contato com anestésico. Os camundongos do grupo crônico, foram expostos ao anestésico Sevoflurano de forma crônica, de maneira a conter na caixa de exposição 1lpm de oxigênio e uma concentração média de 27 partes por milhão (ppm) do anestésico durante as 5h/dia de exposição.

Após o término do período de exposição, no dia 21 os camundongos foram submetidos ao procedimento de eutanásia por deslocamento cervical, onde imediatamente realizou-se o procedimento de punção cardíaca para coleta de amostra sanguínea e posterior análise por meio de citometria de fluxo, através do Citômetro de Fluxo com Focagem Acústica AttuneVR (Applied Biosistemas).

A partir dos resultados obtidos pela citometria de fluxo, foram realizadas as análises estatísticas no software StatistixVR 2010 e os dados de todas as variáveis dependentes não se comportaram parametricamente de acordo com o teste de Shapiro-Wilk e foram gerados dados descritivos (mediana) para índice de fragmentação do DNA leucocitária (DFI), Peroxidação Lipídica Eritrocitária (LPO), Espécies Reativas de Oxigênio Eritrocitária (ROS) e Fluidez da Membrana Eritrocitária. Os efeitos do sevoflurano sobre as células sanguíneas foram testados contra a análise do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e as médias foram ranqueadas usando o teste Dunn ( $P < 0,05$ ).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sevoflurano é um dos anestésicos inalatórios mais comumente utilizados, no entanto seu uso pode induzir lesão mitocondrial, dano à produção de energia a apoptose celular (Qi et al., 2018). De acordo com Hoeijmakers (2009), danos ao DNA diminuem a replicação celular e levam à senescência ou morte celular. Além disso, o agente anestésico inalatório tem potencial de interferir no equilíbrio oxidativo tecidual, considerando sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio e reduzir mecanismos de defesa antioxidante (Chinelato e Froes 2002).

Em outro estudo com anestésico inalatório, Zanin et al (2024), resalta que o uso do anestésico isoflurano surtiu influência na peroxidação lipídica, com consequente redução da motilidade espermática, além de reduzir a fluidez da membrana e aumentar as taxas de fragmentação do DNA e ruptura celular espermática. Segundo Braz et al. (2018), a redução de fluidez da membrana pode estar relacionada a ação que o anestésico gera durante sua exposição resultando no processo de apoptose celular, o que posteriormente poderá ocasionar fragmentação do DNA e translocação de fosfolípidios, o qual é responsável por manter a fluidez de membrana (Vendrel et al. 2014). Neste experimento, nós encontramos resultados similares nos camundongos submetidos a exposição crônica ao sevoflurano, promovendo o aumento no índice de fragmentação do DNA e diminuição da fluidez de membrana.

	Grupos de Exposição	
	Grupo Crônico	Grupo Controle
Índice de Fragmentação de DNA (DFI)	0,083 A	0,073 B
Peroxidação Lipídica eritrocitária (LPO)	45,37 A	44,11 A
Espécies reativas ao oxigênio (ROS)	11385 A	11235 A
Fluidez da Membrana	11992 A	21183 B

Tabela 1. As letras A e B servem como símbolos para demonstrar diferença ou semelhança estatística entre grupos experimentais; valores acompanhados pela mesma letra não apresentam diferença estatística, enquanto letras diferentes apresentam variação estatística de acordo com Kruskal-Wallis e ranqueamento Dunn; com nível de significância de  $P < 0,05$ .

#### 4. CONCLUSÕES

Concluimos que o sevoflurano é prejudicial ao DNA leucocitário e altera a fluidez de membrana eritrocitária dos camundongos submetidos a exposição crônica deste anestésico volátil.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUN AG, Souza KM, Guedes JL, Figueiredo DBS, Lara JR, Silva MAP, Braz LG, Braz MG (2021) **Efeitos hepatotóxicos e neuroendócrinos em médicos expostos ocupacionalmente aos mais modernos anestésicos halogenados e óxido nitroso.** Environ Toxicol Pharmacol 81:103515.

BRAZ, MG, et al., 2018. Efeitos detectados em células bucais esfoliadas de residentes médicos de anestesiologia expostos ocupacionalmente a anestésicos inalatórios: um estudo observacional. Pesquisa de mutação. **Toxicologia Genética e Mutagênese Ambiental**, 832–833, 61–64.

CESAROVIC, Nikola. et al. Isoflurane and sevoflurane provide equally effective anaesthesia in laboratory mice. **Laboratory animals**, v. 44, n. 4, p. 329-336, 2010.

CHINELATO, AR e Froes, NDTC, 2002. Efeitos genotóxicos em profissionais expostos aos anestésicos inaladores. **Revista Brasileira De Anestesiologia**, 52 (1), 79–85.

DAI CL, Li H, Hu X, Zhang J, Liu F, Iqbal K, Gong CX. **Neonatal exposure to anesthesia leads to cognitive deficits in old age: prevention with intranasal administration of insulin in mice.** *Neurotox Res.* 2020;38:299–311.

FIGUEIREDO DBS, Aun AG, Souza KM, Nishimoto IH, Silva MAP, de Carvalho LR, Braz LG, Braz MG (2022) **A poluição interna com alto teor de anestésicos (isoflurano) está associada à instabilidade genética, citotoxicidade e alterações proliferativas em profissionais que trabalham em um hospital veterinário.** *Environ Sci Pollut Res Int* 29:71774–71784.

HOEIJMAKERS JH. Dano ao DNA, envelhecimento e câncer. **The New England journal of medicine.** 2009; 361(15):1475–1485.

HOUCK .P et al (2023) Exposição à anestesia perinatal e transtornos do espectro autista. **J Neurosurg Anesthesiol** 35(1):127–129

KAYMAK C, Kadioglu E, Coskun E, Basar H, Basar M. 2012. **Determinação de danos ao DNA após exposição a anestésicos inalatórios em linfócitos periféricos humanos e células espermáticas in vitro por ensaio cometa.** *Hum Exp Toxicol.* 31(12):1207–1213.

MILLER, Ronald D. Tratado de anestesia. In: **Tratado de anestesia.** Manole, 2015.

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

QI, J., Jia, Y., Wang, W., Lu, H., Wang, Y., Li, Z., 2018. **O papel do Bag2 na neurotoxicidade induzida pelo anestésico sevoflurano.** *J. Cell. Biochem.* 1-9.

RICCI E, Viganò P, Cipriani S, Somigliana E, Chiaffarino F, Bulfoni A, Parazzini F. 2017. **Ingestão de café e cafeína e infertilidade masculina: uma revisão sistemática.** *Nutr J.* 16(1):37.

VENDREL, X., et al., 2014. **Correlação entre aneuploidia, marcadores apoptóticos e fragmentação de DNA em espermatozoides de pacientes normozoospermicos.** *BioMedicina Reprodutiva Online*, 28 (4), 492–502.

ZANIN, M., et al., 2024. A exposição aguda ao isoflurano prejudica os parâmetros espermáticos em camundongos, **Drug and Chemical Toxicology**, 47 :3 , 330-337, DOI: 10.1080/01480545.2023.2176513.