



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Anestesiologia
www.sba.com.br



ARTIGO ESPECIAL

Riscos ocupacionais, danos no material genético e estresse oxidativo frente à exposição aos resíduos de gases anestésicos



Lorena M.C. Lucio, Mariana G. Braz*, Paulo do Nascimento Junior, José Reinaldo C. Braz e Leandro G. Braz

Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Anestesiologia, Botucatu, SP, Brasil

Recebido em 13 de dezembro de 2016; aceito em 24 de maio de 2017

Disponível na Internet em 24 de junho de 2017

PALAVRAS-CHAVE

Anestésicos inalatórios;
Exposição ocupacional;
Poluição ambiental;
Testes de genotoxicidade;
Instabilidade genômica;
Estresse oxidativo

Resumo

Justificativa e objetivos: Os Resíduos de Gases Anestésicos (RGA) presentes no ar ambiente das Salas de Operação (SO) são associados a riscos ocupacionais diversos. O presente artigo propõe-se a discorrer sobre exposição ocupacional aos RGA e seu impacto em profissionais expostos, com ênfase em danos genéticos e estresse oxidativo.

Conteúdo: Apesar do surgimento de anestésicos inalatórios mais seguros, a exposição ocupacional aos RGA ainda é preocupação atual. Fatores relacionados às técnicas anestésicas e estação de anestesia, além da ausência de sistema de exaustão de gases em SO, contribuem para poluição anestésica. Para minimizar os riscos à saúde em profissionais expostos, recomendam-se limites máximos de exposição. Entretanto, em países em desenvolvimento, ainda carece a mensuração de RGA e de regulamentação frente à exposição ocupacional aos RGA. Os RGA são capazes de induzir danos no material genético, como danos no DNA avaliados pelo teste do cometa e aumento na frequência de micronúcleos em profissionais com exposição prolongada. O estresse oxidativo também é associado à exposição aos RGA por induzir lipoperoxidação, danos oxidativos no DNA e comprometimento do sistema antioxidante em profissionais expostos.

Conclusões: Por tratar-se de questão de saúde pública, é imprescindível reconhecer os riscos ocupacionais relacionados aos RGA, inclusive genotoxicidade, mutagenicidade e estresse oxidativo. Urge a necessidade de mensuração dos RGA para conhecimento desses valores nas SO, especialmente em países em desenvolvimento, de normatização das concentrações máximas seguras de RGA nas SO, além de se adotarem práticas de educação com conscientização dos profissionais expostos.

© 2017 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondência.

E-mail: mgbraz@hotmail.com (M.G. Braz).

KEYWORDS

Inhaled anesthetics;
Occupational exposure;
Environment pollution;
Genotoxicity testing;
Genomic instability;
Oxidative stress

Occupational hazards, DNA damage, and oxidative stress on exposure to waste anesthetic gases**Abstract**

Background and objectives: The waste anesthetic gases (WAGs) present in the ambient air of operating rooms (OR), are associated with various occupational hazards. This paper intends to discuss occupational exposure to WAGs and its impact on exposed professionals, with emphasis on genetic damage and oxidative stress.

Content: Despite the emergence of safer inhaled anesthetics, occupational exposure to WAGs remains a current concern. Factors related to anesthetic techniques and anesthesia workstations, in addition to the absence of a scavenging system in the OR, contribute to anesthetic pollution. In order to minimize the health risks of exposed professionals, several countries have recommended legislation with maximum exposure limits. However, developing countries still require measurement of WAGs and regulation for occupational exposure to WAGs. WAGs are capable of inducing damage to the genetic material, such as DNA damage assessed using the comet assay and increased frequency of micronucleus in professionals with long-term exposure. Oxidative stress is also associated with WAGs exposure, as it induces lipid peroxidation, oxidative damage in DNA, and impairment of the antioxidant defense system in exposed professionals.

Conclusions: The occupational hazards related to WAGs including genotoxicity, mutagenicity and oxidative stress, stand as a public health issue and must be acknowledged by exposed personnel and responsible authorities, especially in developing countries. Thus, it is urgent to establish maximum safe limits of concentration of WAGs in ORs and educational practices and protocols for exposed professionals.

© 2017 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

Resíduos de Gases Anestésicos (RGA) são pequenas quantidades de anestésicos inalatórios presentes principalmente no ar ambiente das Salas de Operação (SO) e de Recuperação Pós-Anestésica (SRPA). Anestésicos halogenados, entre os quais halotano, isoflurano, sevoflurano e desflurano, e o gás óxido nítrico (N₂O), são os principais constituintes dos RGA, por enquadrarem o rol de anestésicos de uso clínico mais frequente.¹

Segundo estimativa da instituição americana *Occupational Safety and Health Administration* (OSHA), mais de 200.000 profissionais de saúde encontram-se sob risco de doenças ocupacionais devido à exposição crônica aos RGA.² O conhecimento desses riscos, por se tratar de uma questão de saúde pública, e a adoção de práticas e regulamentações formais para reduzir a poluição do ar ambiente nas SO em níveis mínimos seguros de exposição, são fundamentais³. O presente artigo tem como finalidade mostrar os impactos da exposição ocupacional aos RGA na saúde dos profissionais expostos, com ênfase em tópicos mais recentemente explorados na literatura, bem como a definição de genotoxicidade, mutagenicidade e estresse oxidativo aplicados à anestesiologia.

Histórico

Os anestésicos inalatórios são fármacos de uso amplo e rotineiro em anestesia geral. A demonstração pública inédita do

diétil éter como anestésico inalatório por William Morton, em 1846, no *Massachusetts General Hospital*, em Boston, nos Estados Unidos, possibilitou a realização de procedimento cirúrgico livre de dor e deu lugar a uma das mais significativas descobertas científicas da medicina.⁴

A prática da anestesiologia assistiu, desde então, a profunda evolução nesse campo, à medida que outros anestésicos se consagraram, tais como N₂O, clorofórmio e tricloroetileno. Entretanto, a elevada toxicidade e o risco de explosão dentro do ambiente cirúrgico relacionados a esses agentes descontinuaram seu uso e fomentaram a procura por anestésicos mais seguros.⁵ Na década de 1950, sintetizou-se o primeiro composto derivado do íon fluoreto, o fluoroxeno, que chegou a ser testado clinicamente, mas logo foi descartado por ser extremamente tóxico. O halotano é um hidrocarbono halogenado sintetizado em 1957, cuja reduzida inflamabilidade em relação aos agentes então disponíveis consolidou-o como o principal anestésico inalatório da época, e perdura até hoje.⁶ Seguiu-se, em 1960, o metoxiflurano, que teve seu uso limitado devido à elevada nefrotoxicidade.⁷ Nessa mesma época, relatos de raros casos de hepatite fatal relacionados ao halotano impulsionaram a busca por agentes inalatórios novos e mais seguros sintetizados na década de 1960, tais como enflurano em 1963 e seu isômero isoflurano em 1965, além do sevoflurano e do desflurano (popularizados em meados da década de 1990).^{7,8} O xenônio, reconhecido por ser um gás inerte e inodoro, apresenta rápida absorção e eliminação pulmonar, nenhum metabolismo hepático e renal e mínimos efeitos cardiovasculares. Entretanto, seu uso é ainda restrito, pelo

alto custo e limitada disponibilidade.⁵ Assim, o anestésico inalatório ideal ainda não existe, sendo importante tópico de investigação.^{4,7}

Resíduos de gases anestésicos (RGA)

A poluição do ambiente cirúrgico com RGA deve-se essencialmente a três causas: técnicas anestésicas, estação de anestesia e SO com ou sem sistema de exaustão de gases.⁹ Quanto às técnicas anestésicas, podem-se enumerar como principais fatores: 1) Indução e/ou manutenção da anestesia geral com anestésicos inalatórios, principalmente na indução anestésica em pacientes pediátricos com máscara facial; 2) Falha no desligamento tanto da válvula que controla o fluxo (fluxômetro) de gás quanto do vaporizador (quando a SO está sem paciente); 3) Escoamento de líquido anestésico no preenchimento do vaporizador; 4) Realização de *flushing* (lavagem do circuito com alto fluxo de oxigênio) ao fim do procedimento cirúrgico para acelerar a recuperação da anestesia inalatória (prática comum e extremamente danosa); 5) Problemas com acoplamento da máscara facial, seja por material impróprio para uso, tamanho inadequado ou ainda por dificuldades relacionadas à via aérea do paciente; 6) Vazamento de gás decorrido de insuflação insuficiente do balonete do Tubo Orotraqueal (TOT) ou de máscara laríngea, ou ainda pelo uso de TOT sem balonete; 7) Uso de Fluxo de Gases Frescos (FGF) intermediário (2–4 L.min⁻¹) e principalmente alto fluxo (> 4 L.min⁻¹);¹⁰ 8) Uso de capnógrafo do tipo *sidestream* sem retorno dos gases ao aparelho de anestesia; e 9) Uso de sistema respiratório de Mapleson, principalmente em anestesia pediátrica.^{10,11}

Em relação à estação de anestesia, inúmeros componentes podem ser motivo de escape de anestésicos para o ar ambiente. Eventuais vazamentos podem ser provenientes de válvulas e conexões do circuito respiratório, defeitos em peças e balões reservatórios.^{9,12}

As SO podem ou não ter sistema de exaustão de gases. 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.¹²

Riscos ambientais dos RGA

Os RGA eliminados das SO para o meio externo chegam à atmosfera inalterados e causam impacto ambiental. Os danos ambientais causados pelos gases anestésicos dependem do seu peso molecular, da proporção de átomos halogenados e da sua meia-vida na atmosfera. Como dados da meia-vida atmosférica aproximada dos gases anestésicos têm-se: N₂O – 114 anos, desflurano – 10 anos, halotano – sete anos, sevoflurano – cinco anos e isoflurano – três anos.¹³ Todos os anestésicos inalatórios em uso contêm compostos halogenados que se assemelham aos clorofluorocarbonos

e, portanto, apresentam efeitos deletérios na camada de ozônio. O N₂O, além de ser um dos gases depletors da camada de ozônio, apreende a radiação térmica emanada da superfície terrestre e contribui para o fenômeno de aquecimento global conhecido como “efeito estufa”.¹³

Saúde ocupacional e exposição aos RGA

A possibilidade de riscos à saúde relacionados à exposição aos anestésicos inalatórios tem sido muito discutida nas últimas décadas.¹⁴ Diversos profissionais (médicos e veterinários anesthesiologistas e cirurgiões, enfermeiros e profissionais da saúde afins, além de estudantes) atuantes em SO e/ou SRPA são os principais expostos aos RGA.¹

O primeiro estudo que chamou a atenção da comunidade científica para os riscos associados à exposição aos RGA foi conduzido por Vaïzman, na União Soviética, em 1967. Sua pesquisa envolveu 198 homens e 110 mulheres anesthesiologistas expostos principalmente a dietil éter, N₂O e halotano, e demonstrou não apenas sintomas como fadiga, cefaleia e irritabilidade, mas também evidenciou, pela primeira vez, efeito adverso no sistema reprodutivo. Foram, então, relatados 18 casos de aborto espontâneo em 31 gestações em anesthesiologistas expostas a RGA.¹⁵ Tal achado suscitou grande preocupação quanto à segurança dos profissionais expostos. Em 1974, a *American Society of Anesthesiologists* (ASA) publicou, nos Estados Unidos, o estudo intitulado *Occupational disease among operating room personnel: a national study. Report of an ad hoc committee on the effect of trace anesthetics on the health of operating room personnel*.¹⁶ Comparou-se, por meio de questionário, um grupo de 49.585 profissionais expostos aos RGA com um grupo constituído de 23.911 indivíduos sem exposição. Observaram-se nas mulheres expostas risco aumentado de aborto espontâneo, anomalias congênitas, câncer e doenças hepáticas e renais. Já os anesthesiologistas do sexo masculino incorreram em risco aumentado de doenças hepáticas e filhos com anormalidades congênitas.¹⁶

Posteriormente, tais estudos foram revistos por outros autores, que verificaram inúmeros erros metodológicos e vieses (por exemplo, viés de respondedor na análise dos questionários e fatores confundidores, tais como estresse psicológico e longas jornadas de trabalho). Isso veio a enfraquecer, sobretudo, a evidência da associação causal entre exposição aos anestésicos inalatórios e desfechos reprodutivos negativos (aborto espontâneo e anormalidades congênitas).¹⁴

Limites de exposição ocupacional aos RGA

Diante do exposto, houve necessidade de recomendações formais para reduzir a exposição ocupacional aos RGA, com destaque para o *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH), em 1977,¹⁷ que sugeriu a adoção de limites de exposição aos RGA em quaisquer ambientes passíveis de administração desses agentes. Determinaram-se, assim, como limites de exposição ocupacional: duas partes por milhão (ppm) – *ceiling* – aos agentes halogenados e de 25 ppm – *Time-Weighted Average* (TWA) – ao N₂O durante seu tempo de administração. Além disso, recomendou-se a implantação de sistemas de exaustão efetivos (*scaven-*

gers) que permitem uma eficiente renovação do ar nas SO.¹⁷ Instituíram-se, assim, nos Estados Unidos, protocolos e condutas técnicas em anestesia para evitar o vazamento de gás anestésico para a SO, tais como cuidados com máscara facial, vaporizadores, fluxômetros e testes para identificar vazamentos em sistemas de alta e de baixa pressão. A vigilância ao estado de saúde dos médicos expostos, com exames físicos e laboratoriais, conforme a necessidade, também foi abordada, bem como a necessidade de monitorizar o ar ambiente para determinar as concentrações dos RGA, com documentação por meio de relatórios e inspeções seriadas.¹⁷

Após a regulamentação dessas medidas de segurança adotadas em relação à exposição ocupacional aos RGA, outros países também implantaram legislação própria. O *British Government Health Services Advisory Committee*, por exemplo, estabeleceu valores limites em TWA de 8 h de 100 ppm para N₂O, 50 ppm para enflurano e isoflurano e 10 ppm para halotano, por serem esses valores muito inferiores aos que causam efeitos adversos relatados em estudos experimentais.¹⁸ Outros exemplos de nações com legislação própria são França, Suíça, Alemanha, Áustria, Holanda, Itália, Suécia, Noruega, Dinamarca e Polônia.¹⁴

No Brasil, a exposição ocupacional aos RGA ainda é assunto pouco explorado e carece de regulamentação pela legislação trabalhista. Os limites máximos de gases anestésicos seguros ao trabalhador são ausentes, assim como recomendações sobre monitoração e fiscalização. A Norma Regulamentadora NR 15 (sobre atividades e operações insalubres) traz referência ao N₂O, a ser limitado em “doses asfixiantes”. Por sua vez, a NR 32 (norma de segurança e saúde no trabalho em estabelecimentos de assistência à saúde), apesar de endereçar o tema mais diretamente citando os direitos da trabalhadora gestante exposta aos RGA, o faz de forma pouco clara e insuficiente.¹¹

Estudo nacional feito na década de 1980 comparou as concentrações de halotano no ar e no sangue de animais expostos à poluição da sala de experimentação com e sem o sistema Venturi.¹⁹ Os autores mostraram a eficiência desse sistema antipoluição na exaustão de RGA. A maioria dos anesthesiologistas de centros cirúrgicos brasileiros usa os mais variados tipos de anestésicos inalatórios (de halotano até desflurano) sem protocolos de conduta para redução de vazamentos e de poluição em SO, as quais não têm sistema de exaustão para eliminação de RGA. Vale destacar um trabalho, feito no Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (Unesp), o qual mensurou, pela primeira vez, as concentrações ambientais dos anestésicos em SO de centro cirúrgico brasileiro, com metade de SO com sistema parcial de exaustão, em regime de 6–8 trocas de ar/h, e metade de SO sem sistema de exaustão, sendo que as últimas SO refletem a realidade de muitos hospitais em países em desenvolvimento.²⁰ A média das concentrações dos halogenados isoflurano, sevoflurano e desflurano estava acima de 5 ppm e para o N₂O estava maior do que 170 ppm (TWA). De acordo com as normas internacionais preconizadas pelo Instituto Americano de Arquitetos (1993),²¹ recomendam-se no mínimo 15 trocas de ar/h, a fim de assegurar que o ar circulante nas SO seja completamente preenchido por ar novo. Adicionalmente, o ideal é que se use sistema com fluxo de ar unidirecional ou laminar, o qual permite que toda a contaminação gerada no ambiente seja levada para fora dele o mais rapidamente possível.²²

Assim, é necessário padrão de qualidade acompanhado de inspeções de rotina e mensuração regular das concentrações de RGA nas SO para averiguar o seu adequado funcionamento. Ressalta-se, também, que há reduzida quantidade de estudos que abordam a exposição ocupacional aos RGA e os seus possíveis efeitos deletérios em países em desenvolvimento, como no Brasil, o que dificulta a percepção desse impacto na população e nos profissionais de saúde.^{20,23–26}

A preocupação com a exposição ocupacional, quanto às limitações das concentrações de RGA, é tema pertinente, devido aos potenciais riscos à saúde dos profissionais expostos. É fato bem documentado que tal exposição, mesmo que por breve período, pode se refletir em sinais e sintomas como cefaleia, irritabilidade, fadiga, náusea, tontura, dificuldade de julgamento e coordenação.¹ Alterações mais graves em indivíduos expostos, inclusive danos renais e hepáticos e condições neurodegenerativas (como doença de Parkinson e alterações proprioceptivas), também já foram relatadas.^{27,28}

Potencial genotóxico e mutagênico dos RGA

Um dos importantes focos de várias pesquisas é em relação ao potencial de indução de danos no material genético (genotoxicidade e mutagenicidade) dos anestésicos inalatórios avaliados em animais,^{29,30} pacientes^{31–33} e profissionais ocupacionalmente expostos.^{20,34,35} De fato, biomarcadores genéticos têm sido muito empregados para monitorar a exposição humana a agentes genotóxicos e/ou mutagênicos com potencial de efeito carcinogênico.³⁶ Dentre os principais marcadores de genotoxicidade e mutagenicidade, figuram o teste do cometa e o micronúcleo (MN).

O teste do cometa é um método sensível e de baixo custo para mensurar danos no ácido desoxirribonucleico – DNA, consolidado como importante ferramenta para avaliar genotoxicidade em estudos de risco ocupacional.³⁷ Tal metodologia consiste na imersão de células eucarióticas em gel de agarose, lise da membrana celular e posterior eletroforese. Sob condições alcalinas de eletroforese (pH > 13), os nucleoides com danos no DNA (que tem carga negativa) migram para o polo positivo, imitando a aparência de um cometa (cabeça e cauda). Assim, os fragmentos resultantes de quebras de fitas simples e/ou duplas de DNA, além de sítios álcali-lábeis, migram em direção ao anodo da cuba de eletroforese.³⁷ Quanto maior a presença de material genético danificado, maior é a migração desses fragmentos de DNA. Dessa forma, a extensão da cauda reflete, proporcionalmente, a quantidade de danos no DNA (fig. 1).³⁷

Apesar de os mecanismos de genotoxicidade e mutagenicidade dos anestésicos halogenados não serem completamente elucidados, possíveis explicações incluem o metabolismo oxidativo capaz de gerar Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e a indução de dano direto ao genoma, em qualquer fase do ciclo celular.²³ Por outro lado, o N₂O oxida o íon cobalto presente na cobalamina (vitamina B12), levando à inibição da metionina sintetase com produção reduzida de metionina e tetra-hidrofolato e seus subprodutos timidina e ácidos nucleicos (inclusive o DNA).³⁸ Tais alterações estão relacionadas à anemia megaloblástica, agranulocitose, degeneração combinada subaguda da medula espinhal

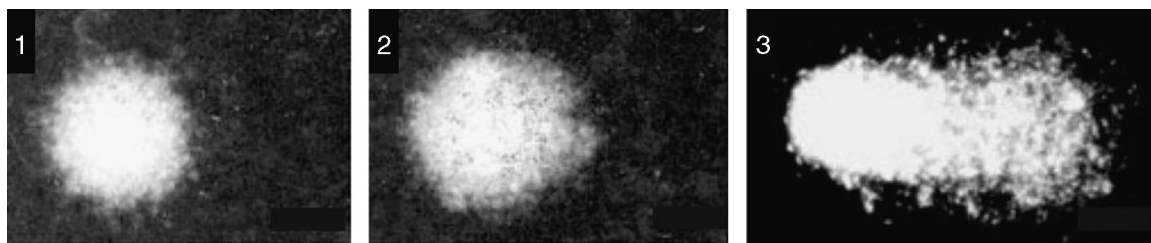


Figura 1 Imagens representativas do teste do cometa em linfócitos mostra danos no DNA progressivamente maiores, de 1-3.

e a distúrbios neurocomportamentais em indivíduos sob exposição crônica e/ou elevadas concentrações de N_2O .³⁸

Em estudo pioneiro realizado na região Norte do Brasil,²⁵ os efeitos da exposição ocupacional aos RGA no material genético foram observados durante a residência médica. Os autores verificaram aumento significativo de lesões primárias no DNA em médicos residentes aos oito, 16 e 22 meses expostos ao isoflurano, sevoflurano e N_2O em relação a um grupo controle, em SO sem sistema de exaustão de gases. Por outro lado, não houve aumento de danos basais em linfócitos avaliados em anesthesiologistas expostos cronicamente ao isoflurano, sevoflurano, desflurano e N_2O em centro cirúrgico com sistema parcial de exaustão, em hospital de ensino no sudeste do Brasil.²⁰

Os danos basais no DNA, detectados pelo teste do cometa, têm sido avaliados na população cronicamente exposta aos RGA, porém os resultados são controversos.^{35,39,40} Na Turquia, por exemplo, observou-se aumento significativo de danos no DNA em linfócitos em 66 profissionais (anesthesiologistas, enfermeiros e técnicos) expostos a halotano, isoflurano e N_2O em relação a um grupo controle.³⁹ Distintamente, estudo polonês não mostrou diferenças quanto aos danos no DNA em 100 profissionais expostos a N_2O , isoflurano, sevoflurano e halotano em relação ao grupo controle nem interferência de tempo de exposição em relação aos resultados.³⁵

Existem evidências da interação entre radicais livres derivados de oxigênio ou nitrogênio com bases de DNA, o que resulta em danos que produzem bases oxidadas, sítios abásicos e/ou quebras em fitas de DNA. O teste do cometa, tradicionalmente usado para avaliar danos basais no DNA, também pode ser modificado com o uso de enzimas específicas para avaliação de oxidação nas bases no DNA (pirimídicas e púricas). Esse enfoque foi encontrado em apenas um estudo na literatura, que avaliou danos oxidativos no DNA em enfermeiras expostas cronicamente a RGA, e mostrou aumento de purinas oxidadas.⁴¹

Os MN são corpúsculos extranucleares formados a partir de fragmentos de cromossomo ou de cromossomos inteiros que foram excluídos do núcleo principal da "célula filha" durante a divisão celular (fig. 2). Sua ocorrência representa instabilidade genética e comprometimento na viabilidade celular causados por defeitos genéticos ou exposição exógena a agentes genotóxicos/mutagênicos.⁴² A associação entre MN detectados em linfócitos periféricos e câncer tem suporte teórico. Um estudo do tipo coorte feito pelo projeto internacional *HUMAN MicroNucleus* (HUMN) de 1980 a 2002, que envolveu 10 países e 6.718 indivíduos, relacionou a frequência de MN em linfócitos periféricos a aumento de risco de câncer em uma população considerada saudável.⁴³

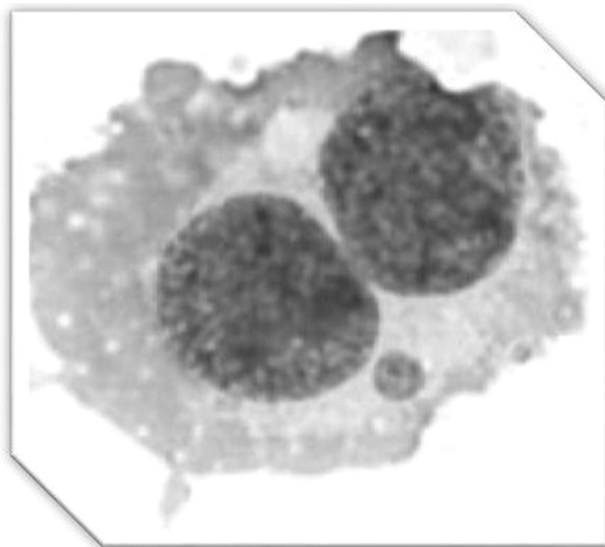


Figura 2 Fotomicrografia de célula binucleada (linfócito) que contém um micronúcleo.

Estudo que comparou SO com concentrações abaixo dos limites recomendados de RGA (com sistema de exaustão de gases) na Alemanha, com outras SO com altas concentrações de RGA (sem sistema de exaustão) em um país do leste da Europa, constatou aumento significativo de MN em linfócitos somente nos profissionais expostos aos RGA nas SO de hospital do leste da Europa.⁴⁴ Na Eslovênia, estudo mostrou que profissionais do sexo feminino expostas a isoflurano, halotano e N_2O (dos quais somente isoflurano estava acima dos limites de concentração recomendados em SO) tiveram frequência significativamente maior de MN e outras alterações cromossômicas em linfócitos do que tecnólogas de radiologia e controles.⁴⁵

O uso de MN em células bucais (avaliado pelo teste *Buccal Micronucleus Cytome Assay*) é bem consolidado e validado internacionalmente, sendo amplamente difundido na última década por estudos de biomonitoramento humano para avaliar exposição a agentes genotóxicos e/ou carcinógenos, além de doenças neoplásicas ou degenerativas. Suas vantagens incluem: 1) Coleta minimamente invasiva de células da mucosa bucal; 2) Elevada sensibilidade; 3) Especificidade em detectar os efeitos da exposição a agentes genotóxicos inalados ou ingeridos; 4) Facilidade de armazenamento de amostras em temperatura ambiente sem necessidade de cultivo celular; e 5) Baixo custo.⁴⁶ O teste do MN bucal também permite avaliar alterações nucleares e diferentes estágios de diferenciação e morte celular.⁴⁷ A figura 3 mostra as

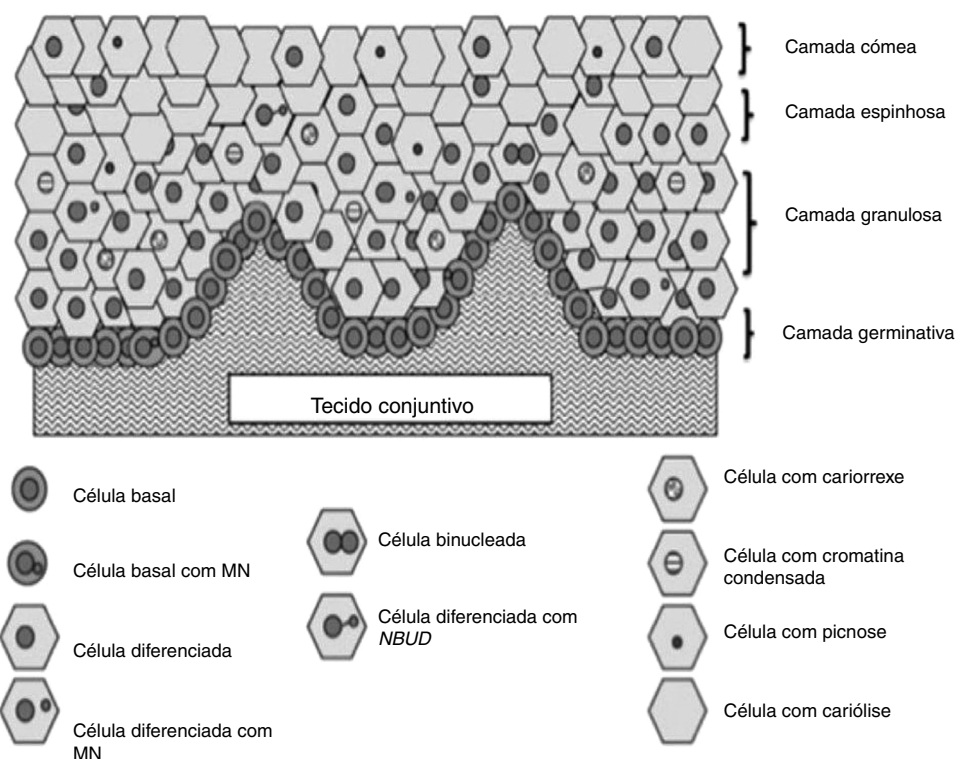


Figura 3 Esquema que representa corte de mucosa bucal, com suas camadas, diferentes tipos celulares e alterações detectadas pelo teste de micronúcleo bucal. MN, micronúcleo; NBUD, *nuclear buds* (protrusões nucleares). Fonte: Figura adaptada de Thomas et al.⁴²

camadas da mucosa oral e os diferentes tipos celulares que podem ser detectados no teste do micronúcleo bucal.⁴² A frequência de MN nas células esfoliadas bucais tem ainda correlação positiva com aquela encontrada em linfócitos, mostrando que efeitos genotóxicos e/ou mutagênicos observados na corrente sanguínea, assim como seus potenciais riscos (a exemplo da associação com câncer), são detectados na mucosa oral.⁴⁸ Ademais, as células esfoliadas da mucosa oral representam a primeira barreira biológica de contato com os anestésicos inalatórios. Na literatura, há somente dois relatos do uso do teste de MN bucal em profissionais cronicamente expostos aos RGA. O primeiro foi feito na Índia e observou-se aumento significativo de MN em diversos profissionais (cirurgiões, anesthesiologistas, enfermeiros e técnicos) expostos a halotano, enflurano, isoflurano, sevoflurano, desflurano e N₂O.³⁴ O segundo foi realizado em Botucatu, SP, o qual mostrou que anesthesiologistas expostos em média por 16 anos aos RGA mais modernos têm aumento de MN e alterações citotóxicas, além de mudanças na proliferação celular da mucosa oral.²⁰

Estresse oxidativo e RGA

Por definição, estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a produção de ERO e as defesas antioxidantes (fig. 4). Radicais livres são moléculas instáveis com elétrons não pareados, sendo extremamente reativos. Quando esses radicais livres e demais moléculas surgem em decorrência de reações oxidativas nos sistemas biológicos, passam a ser denominados de ERO, e podem dar início a uma cascata de

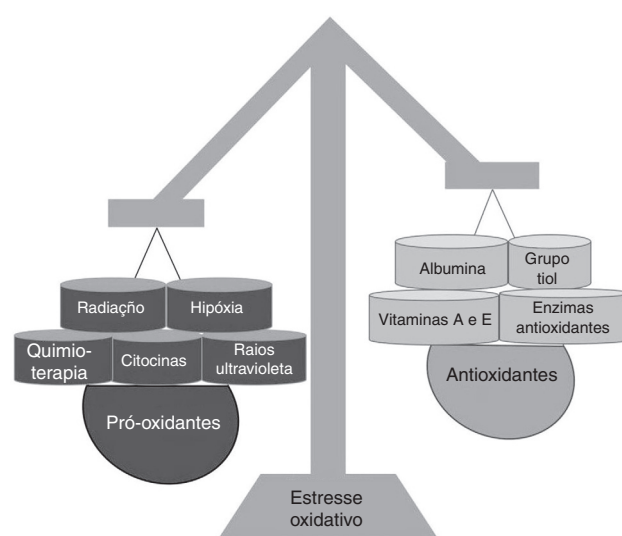


Figura 4 Representação do estresse oxidativo como desequilíbrio entre fatores pró-oxidantes (à esquerda) e antioxidantes (à direita).

reações com moléculas biológicas.⁴⁹ Importantes exemplos dessas reações são lipoperoxidação ou peroxidação lipídica, dano proteico e danos oxidativos em ácidos nucleicos. A primeira envolve o ataque de radicais livres/ERO a membranas e lipoproteínas e está implicada no desenvolvimento de inúmeras doenças, tais como aterosclerose, câncer e doenças degenerativas e inflamatórias.⁵⁰ Já o

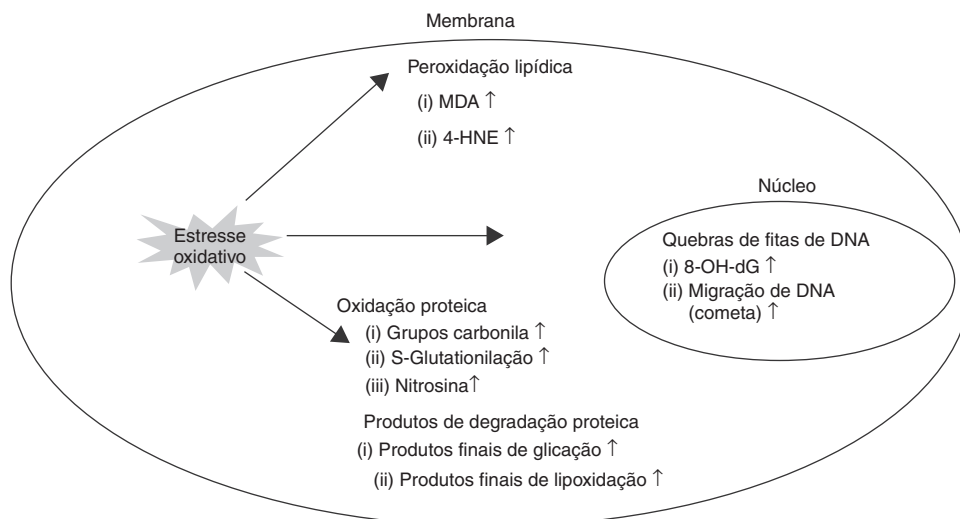


Figura 5 Biomarcadores de dano oxidativo em macromoléculas. O estresse oxidativo gera danos em macromoléculas, por exemplo, no DNA, nos lipídios e nas proteínas. A presença de estresse oxidativo em macromoléculas pode ser detectada pelos subprodutos resultantes de oxidação. MDA, malonaldeído; 4-HNE, 4-hidroxinonal; 8-OH-dG, 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina. Fonte: Figura adaptada de Lee et al.⁵²

dano proteico ocorre pela formação de grupos proteicos chamados carbonila, que podem induzir proteólise nas bases do DNA (dano oxidativo no DNA), assim como quebras em fitas simples e duplas do material genético (como, por exemplo, a conversão de guanidina em 8-hidroxi-guanidina). Em última análise, os radicais livres podem ser tóxicos em tecidos ou órgãos, com consequente lesão celular, necrose e apoptose.⁵¹ Há, de fato, uma relação entre genotoxicidade e estresse oxidativo.⁵² O estresse oxidativo se relaciona, principalmente, com a indução de danos em macromoléculas, inclusive ácidos nucleicos, lipídios e proteínas, causando dano celular, além de uma gama de doenças.⁵¹

O estresse oxidativo tem sido objeto de estudo por meio do uso de diversos biomarcadores (fig. 5). É bem conhecido o uso de subprodutos de oxidação proteica (proteínas carboniladas, S-glutationilação e nitrotirosina), oxidação do DNA (ex. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina ou 8-OH-dG, fosforilação de resíduos de histona e aumento de migração de DNA pelo teste do cometa) e peroxidação lipídica (malonaldeído ou MDA e 4-hidroxinonal ou 4-HNE, entre outros) para determinar a avaliação de estresse oxidativo.⁵² Sob outra óptica, pode-se avaliar o estresse oxidativo pela redução das defesas antioxidantes, seja por meio da mensuração de agentes antioxidantes enzimáticos (ex: superóxido dismutase ou SOD, glutatona peroxidase ou GPX, catalase ou CAT) ou não enzimáticos (ex: ácido ascórbico ou vitamina C, α -tocoferol ou vitamina E, albumina, ácido úrico), seja por testes que quantificam a capacidade antioxidante.

Possível relação entre exposição ocupacional aos RGA e estresse oxidativo tem sido estudada a partir da última década, mas ainda é um campo relativamente pouco explorado. Estudo conduzido em SO sem sistema de exaustão de gases mostrou, em profissionais expostos, em média, por nove anos ao halotano e N_2O , aumento de peroxidação lipídica pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e redução em grupos antioxidantes tióis, mas sem alteração em teste de capacidade antioxidante.⁵³ Enfermeiros que atuam em SO sem qualquer sistema de exaustão de gases,

expostos em média a 14,5 anos, principalmente a isoflurano, sevoflurano, desflurano e N_2O , tiveram aumento de quebras no material genético e diminuição de enzima e capacidade antioxidante quando comparados com o grupo não exposto.⁵⁴ Por outro lado, estudo feito em profissionais turcos expostos a enflurano, halotano, isoflurano, sevoflurano e desflurano em SO com sistema de exaustão parcial observou, no plasma, redução das enzimas antioxidantes GPX e SOD e dos microelementos cobre e selênio, porém com aumento do zinco, em relação aos controles.⁵⁵ Em profissionais expostos a halotano, isoflurano, sevoflurano, desflurano e N_2O , com atuação de 3–11 anos em centro cirúrgico com sistema de exaustão de gases anestésicos, verificou-se correlação negativa entre danos no material genético e capacidade antioxidante.⁵⁶ Em outro estudo, ao se compararem enfermeiras expostas (5–27 anos) ao isoflurano e sevoflurano (baixas concentrações) e N_2O (altas concentrações) com um grupo controle, detectou-se aumento de danos oxidativos em bases no DNA e de marcador de lipoperoxidação, redução em enzima antioxidante GPX, mas sem alteração das concentrações de α -tocoferol, nas profissionais expostas.⁴¹ Assim, a maioria dos estudos mostra que a exposição crônica aos RGA induz tanto danos oxidativos quanto declínio nos marcadores de defesa antioxidante.^{41,53–56} Na abordagem feita em médicos durante a residência médica em anestesiologia e cirurgia (portanto em menor tempo de exposição), os quais eram expostos a RGA em SO sem qualquer sistema de exaustão, verificou-se aumento no nível basal de lesões no DNA com alterações nas enzimas CAT e GPX, havendo correlação negativa entre lesões no DNA e enzima antioxidante GPX, quando comparados com um grupo controle.²⁵

Conclusão

Evidências têm mostrado que a exposição ocupacional prolongada/crônica aos RGA pode induzir danos no genoma e

levar ao estresse oxidativo. Dessa forma, urge a implantação de legislação apropriada em nosso país, assim como em países em desenvolvimento, quanto ao limite de exposição ocupacional aos anestésicos inalatórios. Também é fundamental que haja conhecimento das mensurações dos anestésicos em SO e SRPA. Destaca-se, ainda, a necessidade de mais estudos de biomonitoramento para detectar alterações precoces causadas pelos RGA nos profissionais expostos, favorecendo intervenções no meio, pela implantação de sistemas de exaustão efetivos nas SO, e nos indivíduos, valendo-se de medidas educativas e protocolos que assegurem o uso de técnicas anestésicas para reduzir a poluição do ar ambiente.

Financiamento

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), processo nº 2013/21130-0. L.M.C.L. recebeu Bolsa de Doutorado Sanduíche da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), processo nº 14527-13-8.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. NIOSH. Waste anesthetic gases: occupational hazards in hospitals. The National Institute for Occupational Safety and Health of The United States of America. 2007.
2. OSHA. Anesthetic gases: guidelines for workplace exposures. Occupational Safety and Health Administration. 2000.
3. Mcgregor DG. Occupational exposure to trace concentrations of waste anesthetic gases. *Mayo Clinic Proc.* 2000;75:273-7.
4. Whalen FX, Bacon DR, Smith HM. Inhaled anesthetics: an historical overview. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2005;19:323-30.
5. Campagna JA, Miller KW, Forman SA. Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. *N Engl J Med.* 2003;348:2110-24.
6. Moppett I. Inhalational anaesthetics. *Anaesth Intensive Care Med.* 2012;13:348-53.
7. Torri G. Inhalation anesthetics: a review. *Minerva Anesthesiol.* 2010;76:215-28.
8. Urban BW, Bleckwenn M. Concepts and correlations relevant to general anaesthesia. *Br J Anaesth.* 2002;89:3-16.
9. Yasny JS, White J. Environmental implications of anesthetic gases. *Anesth Prog.* 2012;59:154-8.
10. Baker AB. Low flow and closed circuits. *Anaesth Intensive Care.* 1994;22:341-2.
11. Oliveira CRD. Occupational exposure to anesthetic gases residue. *Rev Bras Anesthesiol.* 2009;59:110-24.
12. Briggs G, Maycock J. The anaesthetic machine. *Anaesth Intensive Care Med.* 2013;14:94-8.
13. Ishizawa Y. Special article: general anesthetic gases and the global environment. *Anesth Analg.* 2011;112:213-7.
14. Tankó B, Molnár L, Fülesdi B, et al. Occupational hazards of halogenated volatile anesthetics and their prevention: review of the literature. *J Anesth Clin Res.* 2014;5:426.
15. Vařsman AI. Working conditions in the operating room and their effect on the health of anesthetists. *Eksp Khir Anesteziol.* 1967;12:44-9.
16. Cohen EN, Brown BW, Bruce DL. Occupational disease among operating room personnel a national study - report of an ad hoc committee on the effect of trace anesthetics on the health of operating room personnel. *American Society of Anesthesiologists. Anesthesiology.* 1974;41:321-40.
17. NIOSH. Criteria for a recommended standard: occupational exposure to anesthetic gases and vapors. 1977.
18. Health and Safety Executive (UK). Occupational exposure limits. 1996.
19. Vane LA, Almeida Neto JTP, Curi PR, et al. O efeito do sistema Venturini na prevenção de poluição de sala cirúrgica. *Rev Bras Anesthesiol.* 1990;40:159-65.
20. Souza KM, Braz LG, Nogueira FR, et al. Occupational exposure to anesthetics leads to genomic instability, cytotoxicity and proliferative changes. *Mutat Res.* 2016;791-2, 42-8.
21. AIA. American Institute of Architects. Guidelines for construction and equipment of hospitals and medical facilities. 1993.
22. Turpin BJ, Huntzicker JJ. Identification of secondary organic aerosol episodes and quantitation of primary and secondary organic aerosol concentrations during SCAQS. *Atmos Environ.* 1995;29:3527-44.
23. Chinelato AR, Froes NDTC. Genotoxic effects on professionals exposed to inhalational anesthetics. *Rev Bras Anesthesiol.* 2002;52:79-85.
24. Araujo TK, da Silva-Grecco RL, Bisinotto FMB, et al. Genotoxic effects of anesthetics in operating room personnel evaluated by micronucleus test. *J Anesthesiol Clin Sci.* 2013;2:26.
25. Costa Paes ER, Braz MG, Lima JT, et al. DNA damage and antioxidant status in medical residents occupationally exposed to waste anesthetic gases. *Acta Cir Bras.* 2014;29:280-6.
26. Chaoul MM, Braz JR, Lucio LM, et al. Does occupational exposure to anesthetic gases lead to increase of pro-inflammatory cytokines? *Inflamm Res.* 2015;64:939-42.
27. Mastrangelo G, Comiati V, dell'Aquila M, et al. Exposure to anesthetic gases and parkinson disease. *BMC Neurol.* 2013;13:194.
28. Casale T, Caciari T, Rosati MV, et al. Anesthetic gases and occupationally exposed workers. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2014;37:267-74.
29. Rocha TL, Dias-Junior CA, Possomato-Vieira JS, et al. Sevoflurane induces DNA damage whereas isoflurane leads to higher antioxidative status in anesthetized rats. *Biomed Res Int.* 2015;2015:264971.
30. Braz MG, Karahalil B. Genotoxicity of anesthetics evaluated in vivo (animals). *Biomed Res Int.* 2015;2015:280802.
31. Braz MG, Braz LG, Barbosa BS, et al. DNA damage in patients who underwent minimally invasive surgery under inhalation or intravenous anesthesia. *Mutat Res.* 2011;726:251-4.
32. Orosz JE, Braz LG, Ferreira AL, et al. Balanced anesthesia with sevoflurane does not alter redox status in patients undergoing surgical procedures. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2014;773:29-33.
33. Nogueira FR, Braz LG, Andrade LR, et al. Evaluation of genotoxicity of general anesthesia maintained with desflurane in patients under minor surgery. *Environ Mol Mutagen.* 2016;57:312-6.
34. Chandrasekhar M, Rekhadevi PV, Sailaja N, et al. Evaluation of genetic damage in operating room personnel exposed to anesthetic gases. *Mutagenesis.* 2006;21:249-54.
35. Szyfter K, Stachecki I, Kostrzewska-Poczekaj M, et al. Exposure to volatile anesthetics is not followed by a massive induction of single-strand DNA breaks in operation theatre personnel. *J Appl Genet.* 2016;57:343-8.
36. Norppa H. Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. *Toxicol Lett.* 2004;149:309-34.
37. Tice RR, Agurell E, Anderson D, et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen.* 2000;35:206-21.
38. Sanders RD, Weimann J, Maze M. Biologic effects of nitrous oxide: a mechanistic and toxicologic review. *Anesthesiology.* 2008;109:707-22.

39. Sardaş S, Aygün N, Gamli M, et al. Use of alkaline Comet assay (single cell gel electrophoresis technique) to detect DNA damages in lymphocytes of operating room personnel occupationally exposed to anaesthetic gases. *Mutat Res.* 1998;418:93–100.
40. Eroglu A, Celep F, Erciyes N. A comparison of sister chromatid exchanges in lymphocytes of anesthesiologists to nonanesthesiologists in the same hospital. *Anesth Analg.* 2006;102:1573–7.
41. Wrońska-Nofer T, Nofer JR, Jajte J, et al. Oxidative DNA damage and oxidative stress in subjects occupationally exposed to nitrous oxide (N₂O). *Mutat Res.* 2012;731:58–63.
42. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, et al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat Protoc.* 2009;4:825–37.
43. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis.* 2007;28:625–31.
44. Wiesner G, Hoerauf K, Schroegendorfer K, et al. 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.
45. Bilban M, Jakopin CB, Ogrinc D. Cytogenetic tests performed on operating room personnel (the use of anaesthetic gases). *Int Arch Occup Environ Health.* 2005;78:60–4.
46. Bonassi S, Coskun E, Ceppi M, et al. The HUman MicroNucleus project on eXfoLiated buccal cells (HUMN(XL)): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat Res.* 2011;728:88–97.
47. Bolognesi C, Bonassi S, Knasmueller S, et al. Clinical application of micronucleus test in exfoliated buccal cells: a systematic review and meta-analysis. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2015;766:20–31.
48. Ceppi M, Biasotti B, Fenech M, et al. Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: statistical and epidemiological issues. *Mutat Res.* 2010;705:11–9.
49. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism.* 2000;49:3–8.
50. Gasparovic AC, Jaganjac M, Mihaljevic B, et al. Assays for the measurement of lipid peroxidation. *Methods Mol Biol.* 2013;965:283–96.
51. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994;344:721–4.
52. Lee YM, Song BC, Yeum KJ. Impact of volatile anesthetics on oxidative stress and inflammation. *Biomed Res Int.* 2015;2015:242709.
53. Malekirad AA, Ranjbar A, Rahzani K, et al. Oxidative stress in operating room personnel: occupational exposure to anesthetic gases. *Hum Exp Toxicol.* 2005;24:597–601.
54. Izdes S, Sardas S, Kadioglu E, et al. DNA damage, glutathione, and total antioxidant capacity in anesthesia nurses. *Arch Environ Occup Health.* 2010;65:211–7.
55. Türkan H, Aydin A, Sayal A. Effect of volatile anesthetics on oxidative stress due to occupational exposure. *World J Surg.* 2005;29:540–2.
56. Baysal Z, Cengiz M, Ozgonul A, et al. Oxidative status and DNA damage in operating room personnel. *Clin Biochem.* 2009;42:189–93.