

**HORÁRIO EMBRIOPÁTICO DOS AGENTES ANESTÉSICOS
(PROTÓXIDO DE AZOTO, CICLOPROPANO, HALOTANO,
TRICLOROETILENO E ÉTER) NO RATO (*****)**

DR. PEDRO GERETTO, E.A. (*)

DRA. JUDYMARA LAUZI GOZANI ()**

DR. HISAKAZU HAYASHI (*)**

DR. CAIO PINHEIRO (**)**

Os autores estudaram a ação teratogênica de agentes anestésicos inalatórios (Protóxido de azoto, ciclopropano, halotano, metoxifluorano, tricloroetileno, éter), em ratas, determinando o horário embriopático, ou seja, aquele em que os agentes estudados atuam determinando malformações nas crias de ratas de raça Wistar.

A ação teratogênica dos agentes anestésicos foi demonstrada experimentalmente pela primeira vez por Stockard, em 1910 (31), e as primeiras observações clínicas foram relatadas por Ingalis e col. em 1958 (20).

No entanto, somente a partir de 1964, com os trabalhos de Rector e col. (23) é que se iniciou uma série de pesquisas mostrando a ação teratogênica do N₂O (13,16,22,23,24,26,30) do éter (25), do ciclopropano (2,3), do halotano (4,14,35,19) e do metoxifluorano (27,28).

Recentemente tem sido relatada uma incidência de abortos e malformações em filhos de anestesistas, esposas de

(*) Professor Adjunto, Livre Docente da Disciplina de Anestesiologia do Departamento de Cirurgia da Escola Paulista de Medicina.

(**) Auxiliar de Ensino da Disciplina de Anestesiologia do Departamento de Cirurgia da Escola Paulista de Medicina.

(***) Professor Adjunto, Doutor, Chefe da Disciplina de Embriologia do Departamento de Morfologia da Escola Paulista de Medicina.

(****) Professor Adjunto, Chefe da Disciplina de Anestesiologia do Departamento de Cirurgia da Escola Paulista de Medicina.

(*****) Trabalho laureado com o Prêmio «Oscar Figueredo Barretto» da Associação Paulista de Medicina.

AP 1800

anestesistas e enfermeiras que circulam no Centro Cirúrgico (9,11,12).

Tivemos a oportunidade de constatar três casos de recém-nascidos que apresentavam malformações e cujas mães haviam sido operadas no início da gestação, não referindo atraso menstrual, ignorando o fato de estarem grávidas. Todas estas pacientes receberam anestésias em torno das primeiras três semanas de gravidez por cálculos a partir da data do parto.

Estas três pacientes foram operadas respectivamente de:

1 — Paciente hígida, 28 anos, branca. — Laparotomia para retirada de cisto do ovário, recebendo anestesia geral: Pré-medicação, benzodiazepínico e atropina. Indução: tiopental sódico, succinilcolina, intubação traqueal e manutenção com N₂O, halotano e galamina em ventilação controlada.

O recém-nascido, a termo, apresentava uma disgenesia proximal do fêmur direito (Fig. 1).



FIGURA 1

Recém-nascido com disgenesia proximal do fêmur direito

2 — Paciente hígida, 34 anos, branca. — Correção de eventração pós-cesareana mais dermolipectomia. Pré-medi-

cação: inoval e atropina. Indução: tiopental sódico, succinilcolina; manutenção com halotano e galamina em ventilação controlada.

Recém-nascido, a termo, apresentava encefalocele (Figura 2).



FIGURA 2

Recém-nascido com encefalocele

3 — Paciente hígida, 24 anos, branca. — Safenectomia Bilateral. Pré-medicação: meperidina e atropina. Indução: tiopental sódico e succinilcolina seguida de intubação traqueal. Manutenção com halotano em circuito fechado em ventilação espontânea.

O recém-nascido, a termo, apresentava meningocele lombar (Figura 3).

Se considerarmos a incidência de intercorrências cirúrgicas não obstétricas durante a gestação, que segundo Douglas e Child se eleva a 03% (10) e no nosso serviço a 1,1% e o número cada vez maior de mulheres que trabalham em sala de cirurgia, podemos avaliar a importância da determinação clínica e experimental do horário embriopático dos agentes anestésicos mais utilizados na prática diária.

Embora saibamos que os agentes teratogênicos atuam alterando o ritmo da mitose celular (1,5,6,7,8,29) na fase de desenvolvimento do conceito que vai do início da diferenciação celular ao início da organogênese (32) ainda não se conse-

guiu, nem clínica nem experimentalmente, determinar o período mais susceptível à ação teratogênica dos anestésicos.

Snegireff em 1968 (30), trabalhando com conceptos de galinha e Geretto em 1973 (14), trabalhando com ratas, demonstraram a diminuição do índice mitótico e o aumento da porcentagem de metáfase das células do sômito e do tubo neural, e estas alterações, foram consideradas as responsáveis pela alteração do ritmo de desenvolvimento do concepto.



FIGURA 3

Recém-nascido com meningocele lombar

A relação entre a incidência de malformações e a fase de desenvolvimento do concepto foi demonstrada clinicamente por Greg e col. em 1941 (17) com relação à rubéola, e por Lens e Knapp em 1962 (21) em relação à talidomida.

Com freqüência somos solicitados a opinar em que período da gravidez a gestante está menos exposta à ação teratogênica da anestesia e qual o agente anestésico mais inócuo. Estas respostas são dadas com base em conceitos teóricos, sem fundamentação clínica ou experimental.

Interessados neste problema desde 1966 (15), nos propomos agora a determinar o horário embriopático do protóxido de azoto, ciclopropano, éter e tricloroetileno em ratos.

Mesmo sabendo que não podemos extrapolar para a clínica os resultados obtidos experimentalmente, a importância dos testes experimentais para a avaliação teratogênica das drogas empregadas clinicamente, já foi enfatizada por Cohen em 1964 (8), Wilson em 1968 (33) e Basford em 1968 (4).

MATERIAL E MÉTODO

Nossa pesquisa foi realizada no Laboratório de Embriologia do Departamento de Morfologia da Escola Paulista de Medicina.

Foram utilizadas ratas adultas, raça Wistar, com peso entre 200-300 g, virgens e oriundas de nosso biotério.

O acasalamento foi feito entre 17 e 18 horas, na proporção de duas fêmeas para um macho, e o teste de prenhez realizado no dia seguinte pela manhã entre 7 e 8 horas, pela técnica de Hamilton e Wolfe (18), sendo este considerado o dia zero da prenhez.

O total de ratas prenhes empregado, foi de setenta e dois, dividido em dois grupos, A e B.

Constituído o par de ratas prenhes, realizamos um sorteio para separação dos grupos A e B, sendo os mesmos numerados: P₁A a P₃₆A e P₁B a P₃₆B, colocados em gaiolas separadas e mantidos nas mesmas condições ambientais e de alimentação "ad libitum".

Todos os animais, tanto do grupo A como do grupo B, foram anestesiados durante sessenta minutos, sem receber qualquer droga como pré-medicação, com a mesma técnica, variando apenas o agente anestésico empregado, em suas concentrações características, e a época em que receberam a anestesia.

Os animais foram colocados em um campânula de "Pirrex" com capacidade de 4.600 ml, com dois orifícios: um superior que dava entrada à mistura anestésica e outro inferior, para saída da mistura expirada.

Os aparelhos empregados para fornecimento da mistura anestésica variaram de acordo com o agente anestésico empregado. A fonte fornecedora de oxigênio para a mistura foi um aparelho de anestesia "Dameca".

Quando as ratas pariram, as crias foram cuidadosamente examinadas a olho nu, e as malformações foram anotadas e documentadas fotograficamente, uma vez que nosso objetivo era analisar as malformações aparentes.

O tempo de sessenta minutos foi contado a partir do momento em que os animais se acomodavam dentro da campânula e deixavam de reagir a estímulos externos, como a

ruídos produzidos, batendo-se na campânula com um objeto metálico. Os animais só foram recolocados em suas gaiolas quando completamente acordados.

As ratas do grupo B foram anestesiadas no 9.º, 10.º e 11.º dias de prenhez e as do grupo A no 6.º, 7.º, 8.º, 12.º, 13.º e 14.º dias de prenhez e os animais foram assim divididos:

P₁A e B a P₅A e B receberam anestesia pelo N₂O empregando-se a seguinte técnica: as ratas foram colocadas na campânula e em seguida fizemos entrar pelo orifício superior um fluxo de 5.000 ml de oxigênio por minuto durante 5 minutos, sendo em seguida administrado um fluxo de 4.000 ml de N₂O, para 2.000 ml de O₂, por minuto. Estas concentrações foram fornecidas por um aparelho de anestesia "Dameca". Terminada a anestesia suspendemos o N₂O e voltamos a administrar o mesmo fluxo de O₂, até que o animal estivesse completamente acordado.

P₆A e B a P₁₀A e B, foram anestesiados pelo halotano, com concentrações em torno de 2%, fornecidos por um vaporizador "Fluotec Mark II", com um fluxo de O₂ de 1.000 ml por minuto.

P₁₁A e B a P₁₅A e B receberam uma concentração de 2% de metoxiflorano, fornecida por um vaporizador "Pentranec", com um fluxo de 1.000 ml de O₂ por minuto.

P₁₆A e B a P₂₀A e B receberam tricloroetileno através de um "Vaporizador Universal Takaoka", com um fluxo de O₂ de 1.000 ml por minuto, numa concentração de 2,3% calculada em função do volume de tricloroetileno gasto.

P₂₁A e B a P₂₅A e B receberam concentrações de ciclopropano inicialmente de 30% para indução e de 10% para manutenção, com fluxo de O₂ de 1.000 ml por minuto. Estas concentrações foram fornecidas por um aparelho de anestesia "Dameca".

P₂₆A e B a P₃₆A e B receberam anestesia pelo éter, através de um vaporizador "Takaoka", em concentrações calculadas, pelo volume consumido, de 2,8% e com um fluxo de O₂ de 1.000 ml por minuto.

ESTATÍSTICA

O método estatístico* empregado foi o de diferença entre proporções.

O nível crítico considerado para rejeição da hipótese de nulidade foi em todos os casos $\leq 0,05$ (5%).

(*) Análise estatística foi realizada pelos Professores Neil Ferreira Novo e Elias Rodrigues de Paiva, da Disciplina de Bioestatística do Departamento de Medicina Preventiva da Escola Paulista de Medicina.

Usou-se um asterisco sempre que o valor da estatística calculada era significativa.

RESULTADOS

Nos seis grupos estudados pudemos constatar malformação de cauda (figura 4) nas crias das ratas do grupo B e nenhuma malformação nas crias das ratas do grupo A, sendo

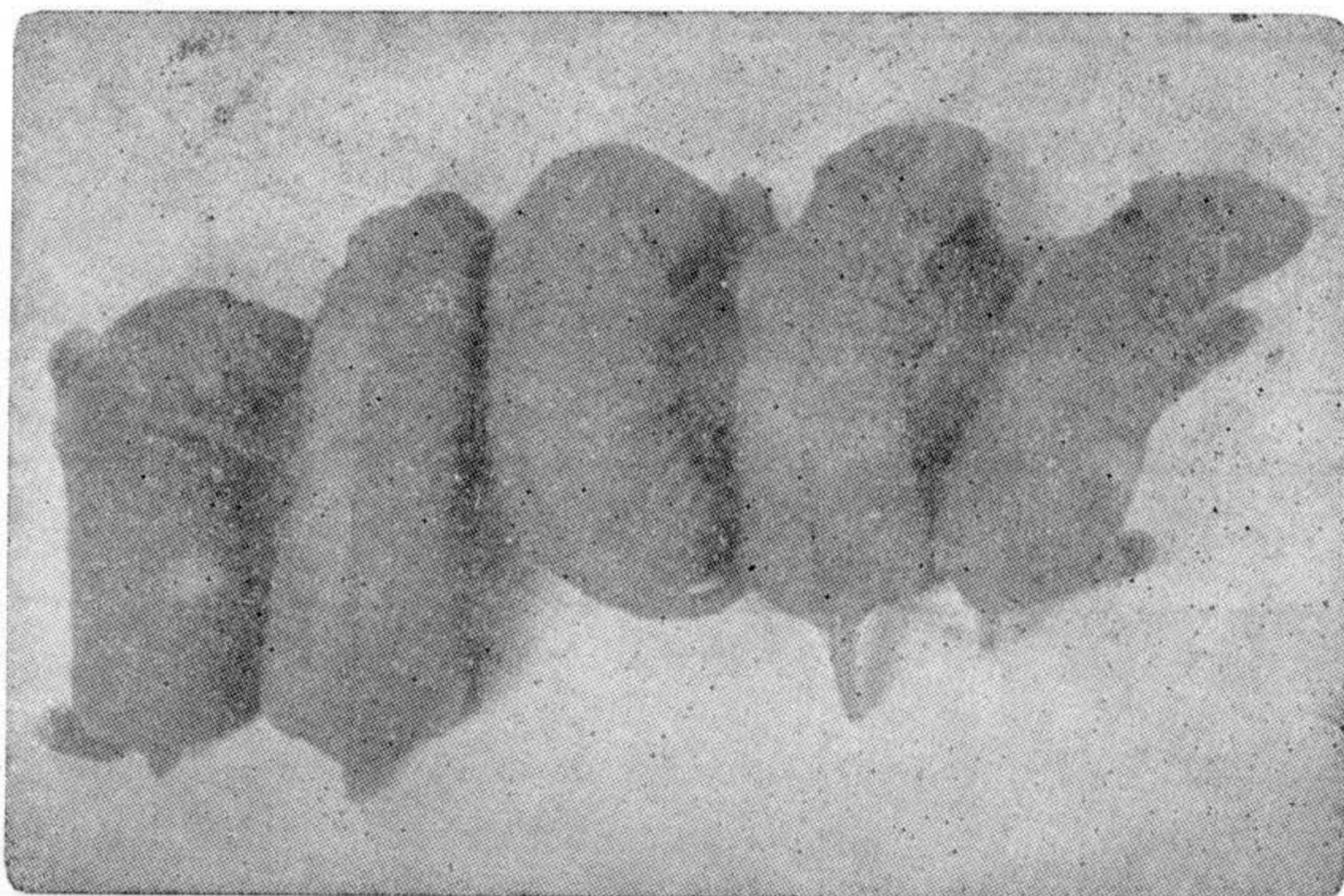


FIGURA 4

Crias das ratas anestesiadas apresentando caudas mal desenvolvidas

que todos os resultados foram submetidos à análise estatística e as proporções foram significantes ao nível crítico considerado 0,05 (5%), em todos os grupos.

Os quadros de 1 a 6 mostram as porcentagens de defeitos encontrados, bem como os respectivos valores da estatística calculada.

QUADRO I

P₁ a P₅ — PROTÓXIDO DE AZOTO

Grupo	N.º de crias	N.º de defeituosos	% de defeituosos
A	43	0	0,00
B	45	5	11,11

QUADRO II

P₆ a P₁₀ — HALOTANO

Grupo	N.º de crias	N.º de defeituosos	% de defeituosos
A	36	0	0,00
B	35	9	25,71

$$z = - 3,27 *$$

QUADRO III

P₁₁ a P₁₅ — METOXIFLUORANO

Grupo	N.º de crias	N.º de defeituosos	% de defeituosos
A	36	0	0,00
B	30	7	23,33

$$z = - 3,09 *$$

QUADRO IV

P₁₆ a P₂₀ — TRICLOBOETILENO

Grupo	N.º de crias	N.º de defeituosos	% de defeituosos
A	43	0	0,00
B	35	14	40,00

$$z = - 4,62 *$$

QUADRO V

P₂₁ a P₂₅ — CICLOPROPANO

Grupo	N.º de crias	N.º de defeituosos	% de defeituosos
A	38	0	0,00
B	35	11	31,43

$$z = - 2,67 *$$

QUADRO VI

P₂₆ a P₃₆ — ÉTER

Grupo	N.º de crias	N.º de defeituosos	% de defeituosos
A	83	0	0,00
B	71	5	7,04

$$z = - 3,78 *$$

DISCUSSÃO

A escolha dos agentes anestésicos baseou-se no fato de serem estes os mais utilizados clinicamente.

Os dias escolhidos para a exposição dos animais a estes agentes basearam-se em trabalhos experimentais que demonstraram ser esta a fase mais suscetível à ação teratogênica (14,15,29,32).

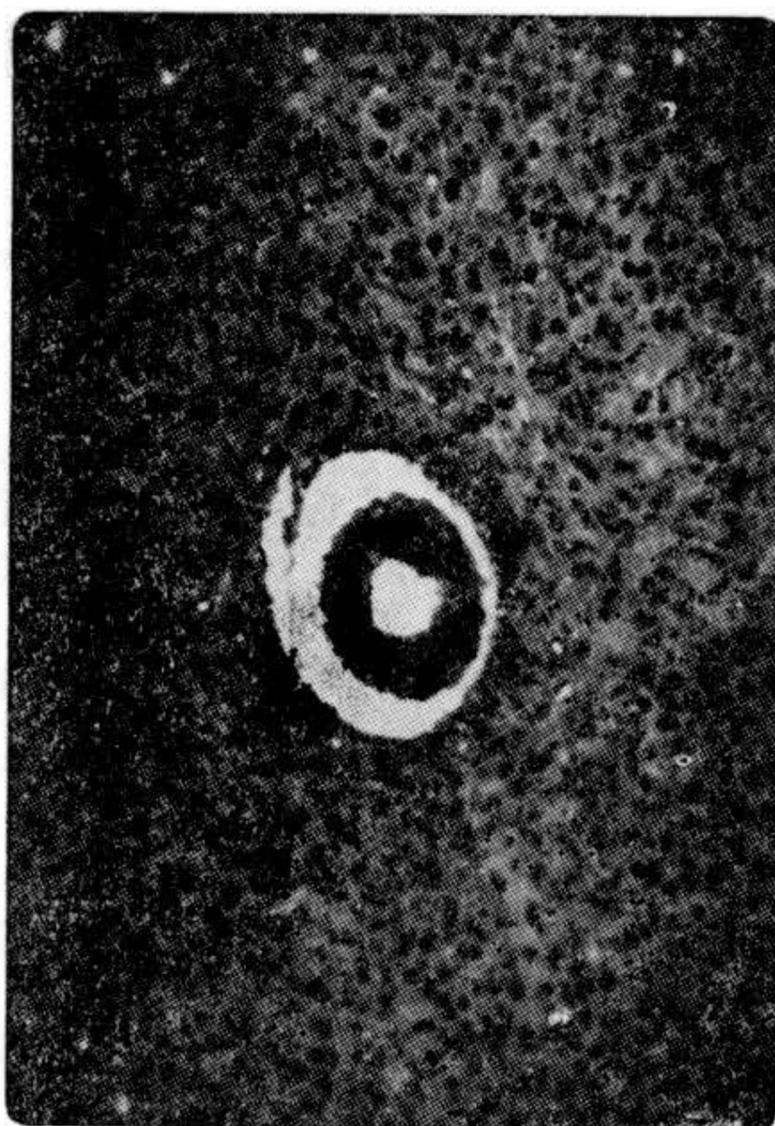


FIGURA 5

Blastocisto do rato na luz do corpo do
uterino no 6.º dia de prenhez

Nenhum animal recebeu pré-medicação porque não queríamos que outras drogas interferissem ou falseassem os resultados.



FIGURA 6

Corte transversal do embrião de rato, 8.º dia no fim da idade somítica.
 Seta horizontal: células do esclerótomo (parte do sômito) migrando em direção à notocorda e tubo neural.
 Seta vertical: tubo neural.

Estes resultados já foram observados por outros autores (4,10,14,15). A diferença é que, na nossa pesquisa, expusemos a rata prenhe ao agente anestésico durante um período determinado de prenhez.

Pelos trabalhos de Wilson (32), sabemos que a ação teratogênica de uma droga se faz sentir na fase de desenvolvimento do conceito, que vai do início da diferenciação celular ao início da organogênese, período este que foi coberto na experimentação da maioria dos pesquisadores.

Como nós (15) (14), Bruce e col. (7) e Snegireff (29,30), haviam observado alterações nas mitoses do tubo neural de conceitos de galinha e sômitos de conceitos de rato, quando submetidos à ação de agentes anestésicos.

Procurando determinar que dia da prenhez das ratas corresponderia à fase somítica, sacrificamos ratas prenhes no 6.º, 7.º, 8.º, 9.º, 10.º, 11.º, 12.º, 13.º e 14.º dias de prenhez, e, através de cortes histológicos do conceito, pudemos observar

que os sômitos apareceram do 9.^o ao 11.^o dias de prenhez, como pode ser observado nas figuras 5, 6, 7 e 8. Por esta razão, expusemos um grupo no 6.^o, 7.^o, 8.^o, 12.^o, 13.^o e 14.^o dias de prenhez aos agentes anestésicos, e o outro grupo no 9.^o, 10.^o e 11.^o dias.

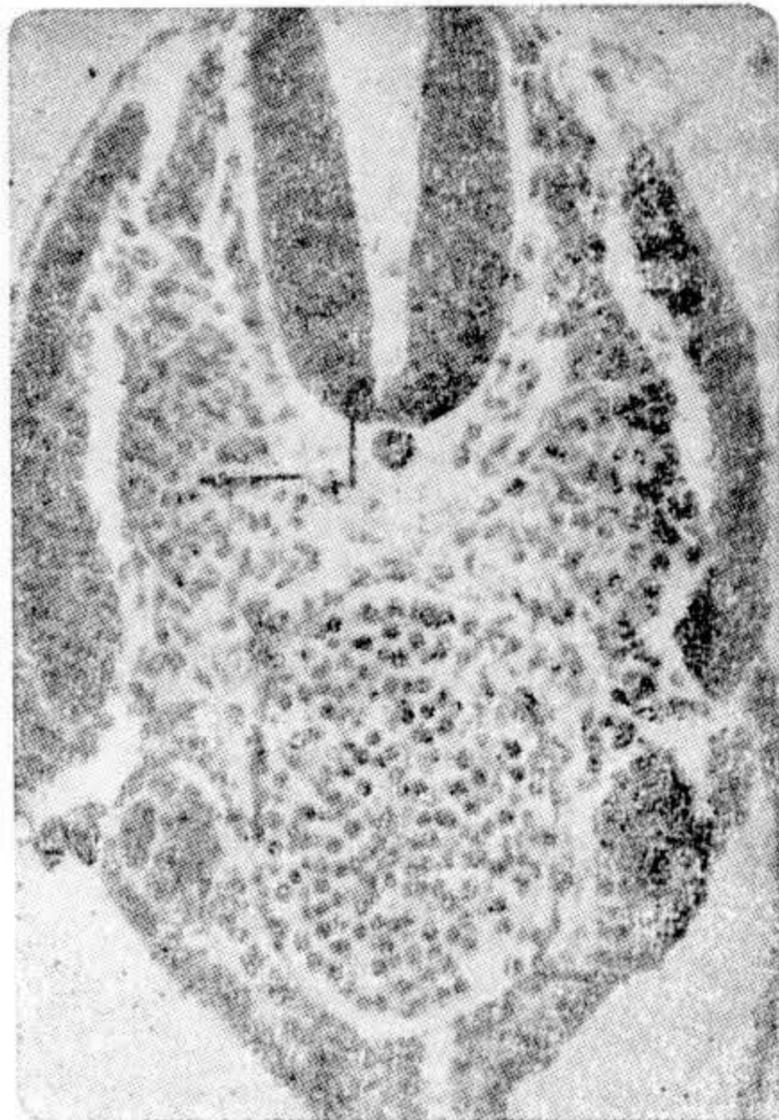


FIGURA 7

Corte transversal do embrião de rato, 10.^o dia no fim da idade somítica.

Seta vertical: tubo neural.

Seta horizontal: células do esclerótomo (parte do sômito) dispersando-se em forma de mesênquima.

Nossos resultados, comparados com os de outros autores (29,30), que utilizaram as mesmas drogas em ratos e conceptos de galinha (foram semelhantes, embora eles tenham exposto os animais por um período mais prolongado ao agente anestésico o que vem mais uma vez confirmar um dos princípios fundamentais da teratogênese, estabelecidos por Wilson (32), que afirma existir uma especificidade de um agente teratológico para uma determinada espécie de animal e para uma determinada fase de desenvolvimento do conceito.

As malformações por nós observadas foram todas semelhantes, embora tenhamos utilizado anestésicos diferentes, na mesma fase de desenvolvimento do conceito e na mesma espécie de animal.

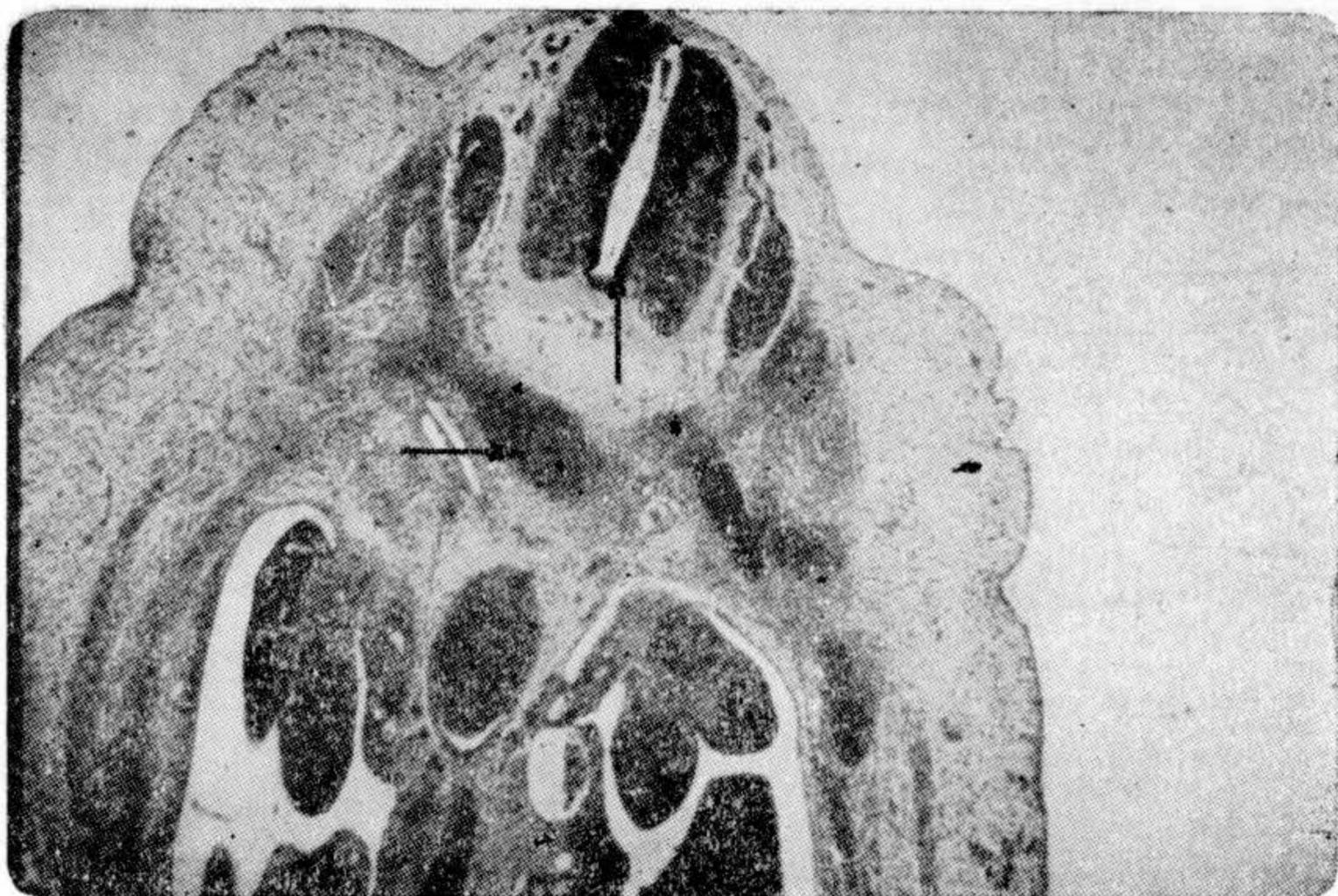


FIGURA 8

Corte transversal do embrião de rato, 12.º dia durante a organogênese.

CONCLUSÕES

Da análise de nossos resultados podemos concluir que na rata da raça Wistar:

- 1 — o conceito durante a fase somítica está sujeito à ação teratogênica dos agentes anestésicos: protóxido de azoto, ciclopropano, halotano, metoxifluorano, tricloroetileno e éter;
- 2 — fora do período somítico os conceitos não sofrem ação teratogênica dos agentes anestésicos referidos;
- 3 — o período somítico do conceito da rata Wistar corresponde aos 9.º, 10.º e 11.º dias de prenhez.

SUMMARY

TERATOGENICITY OF INHALATION ANESTHETICS IN RATS

The authors studied the teratogenic action of inhalation anesthetics (nitrous oxide, cyclopropane, halothane, methoxyfluorane, trichloroethylene, ether, on pregnant rats and stipulated the period of embryopathy which these agents were able to cause malformations in their foetus.

REFERÊNCIAS

1. Anderson N B — Anesthetics and cell division — *Anesthesiology*, 30:361-2, 1969.
2. Anderson N B — The teratogenicity of cyclopropane in chicken — *Anesthesiology*, 29:113, 1968.
3. Anderson N B — The toxic and teratogenic effect of cyclopropane in chicken embryos — In: Fink B R ed Toxicity of Anesthetics — Baltimore, Williams & Wilkins, 1968, b pp 294-307.
4. Basford A B & Fink B R — The teratogenicity of halothane in the rat — *Anesthesiology*, 29:1167, 1968.
5. Bruce D L & Koepke J A — Changes in granulopoiesis in the rat associated with prolonged halothane anesthesia — *Anesthesiology*, 27:811, 1966.
6. Bruce D L, Koepke J A & Traurig H H — Studies of DNA synthesis in the halothane treated rat — In: Fink B R ed Toxicity of Anesthetics — Baltimore, Williams & Wilkins, pp 213, 1968.
7. Bruce D L & Traurig H H — The effect of halothane on the cell cycle in rat small intestine — *Anesthesiology*, 30:401, 1969.
8. Cohen R L — Evaluation for the teratogenicity of drugs — *Clin Pharmacol — Ther* 5:480, 1964.
9. Castellanos C, Cortina J, Herrera J — Efectos teratogenicos de los halogenados en ratones. — Informe preliminar — *Rev Col Anest*, 3:177, 1975.
10. Child III C G & Douglas R G — Surgical problems arising during pregnancy — *Amer J Obstet Gynec*, 47:213, 1944.
11. Cohen E — Occupational disease among operative room personnel: A National Study — *Anesthesiology* 41:321, 1974.
12. Cobert Th — Anesthetics as a cause of abortion — *Fertil Steril* 23:866, 1972.
13. Fink B R, Shepard T H & Blandau R J — Teratogenic activity of nitrous oxide — *Nature*, (Lond) 214:146, 1967.
14. Geretto P — Ação teratogênica no fluotane no rato — *Rev Bras Anest* 23:17, 1973.
15. Geretto P, Hayashi H & Marques de Castro N — Ação teratogênica de anestesia pelo 2-bromo-2-cloro-1-trifluoretano (fluothane) em ratas (*Rattus norvegicus albinus*) no período da prenhez — *Rev Paul Med*, 69:313, 1966.
16. Green C D & Eastwood D W — Effects of nitrous oxide inhalation on hemopoiesis in rats — *Anesthesiology*, 24:241, 1963.
17. Gregg N N M — Congenital cataract following German measles in mother — *Trans Ophtal Soc Aust*, 3: 35, 1941.
18. Hamilton J B & Wolfe J M — The effect of male hormones substances upon birth and prenatal development in the rat — *Anat Rec* 70:433, 1938.
19. Herrera J, Mantilla M — Efectos teratogenicos de los halogenados en ratones, — *Rev Col Anest*, 4-101, 1976.
20. Ingalls T H & Philbrook F R — Monstrosities induced by hypoxia — *New Engl J Med*, 259:558, 1958.
21. Lenz W & Knapp K — Thalidomide embriopathy — *Arch, Environ Health*, 5:100, 1962.
22. Parbrook G D, Mobbs I & Mackenzie J — Effects of nitrous oxide on the early chick embryo — *Brit J Anest*, 37:990, 1965.
23. Rector G H & Eastwood D W — The effects of an atmosphere of nitrous oxyde-oxygen on the incubatin chick — *Anesthesiology*, 25:109, 1964.
24. Shepard T H & Fink B R — Teratogenic activity of nitrous oxide in rats — In: Fink B R, ed — Toxicity of Anesthetics — Baltimore, Williams & Wilkins, pp 308-21, 1968.
25. Smith B E, Gaub M L & Lehrer S B — Teratogenic effects of diethyl ether in the chic embryo — In: Fink B R ed Toxicity of Anesthetics — Baltimore, Williams & Wilkins, pp 267-77, 1968.

26. Smith B E, Gaub M L & Moya F — Teratogenic effects of anesthetic agents: nitrous oxide — *Anesth Curr* 44:726, 1965.
27. Smith B E, Gaub M L & Moya F — Teratogenicity of hypercambia in combination with anesthetics in the chick embryo — *Fred Proc* 24:518, 1965.
28. Smith B E, Gaub M L & Moya F — Investigation into the teratogenic effects of anesthetic agents: fluorinated agents — *Anesthesiology*, 26:260-1, 1965.
29. Snegireff S L & Andersen N B — The effect of cyclopropane on mitosis in chicken embryos — *Anesthesiology*, 34:157, 1971.
30. Snegireff S L, Cox J R & Eastwood D W — The effect of nitrous oxide, cyclopropane and halothane on neural tube mitotic index, weight, mortality and gross anomaly rate in developing chick embryo — In: Fink B R ed — *Toxicity of Anesthetics* — Baltimore, Williams & Wilkins, pp 279-93, 1968.
31. Stockard C R — The influence of alcohol and other anesthetics on embryonic development — *Amer J Anest*, 10:369, 1910.
32. Wilson J G — Experimental studies on congenital malformations. — *J Chron, Dis*, 10:111, 1959.
33. Wilson J G — Introduction: problems of teratogenic testing — In: Fink B R ed — *Toxicity of Anesthetics* — Baltimore, Williams & Wilkins, pp 259-68,



NOVA PUBLICAÇÃO PARA A CLASSE MÉDICA BRASILEIRA

Uma nova série de publicações inéditas destinada à Classe Médica Brasileira será lançada pelo Serviço de Informação Médica da Hoechst do Brasil — SINFORM. Intitula-se “Progressos da Hemoterapia”. Esta monografia científica destaca-se por ser um trabalho pioneiro no Brasil.

O livro foi coordenado pelo dr. Humberto Costa Ferreira e contou com a colaboração de um grupo de médicos especialistas em Hematologia. Aborda os seguintes temas: “Sistemas de grupos sanguíneos”, “Indicações de sangue, componentes derivados”, “Complicações da transfusão de sangue, Hepatite E Importância, diagnóstico e prevenção”, “Maturidade fetal e transfusão da veia-uterina” e “Sistema imunológico — Imunossupressão específica pela IgG-Rn”.