



Efeito do Halotano sobre a Gestação e a Viabilidade Embrionária em Ratos - Estudo Experimental

Effect of Halothane on Pregnancy and Embryonic Viability in Rats - Experimental Study

Carlos Eduardo Domingues¹
Loraine Minchuerri¹
Edilaine Assunção Caetano²
José Antônio Dias Garcia³
Yolanda Christina de Sousa Loyola⁴

¹ Médicos Veterinários formados pela Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, Alfenas/ MG.

² Enfermeira. Mestre em Ciências pela Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (EERP/USP). Ribeirão Preto/SP.

³ Médico Veterinário. Doutor em Fisiologia Humana pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, membro do Núcleo de Pesquisa em Farmacologia e Cirurgia Experimental. Alfenas/MG.

⁴ Médica Veterinária. Doutora em Farmacologia pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente do Centro Universitário do Norte do Espírito Santo (UNESC). Colatina/ES.

Trabalho realizado na Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, Alfenas/MG.

Recebido em julho de 2012

Aceito em setembro de 2012

Correspondência:

Edilaine Assunção Caetano
Rua Tiradentes, 2969, Jardim São Carlos
Alfenas, MG – CEP 37130-000.
Telefone e fax: 35-3291-9500.
Celular 35-9203-0407
E-mail: dipatinga@hotmail.com

RESUMO

Objetivo: conhecer alterações morfológicas no desenvolvimento embrionário de filhotes de ratas expostas ao halotano no período estroal e gestacional e avaliar o período gestacional de maior risco. **Materiais e Métodos:** projeto aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa da UNIFENAS (Parecer Nº 11^a/2008). Foram utilizadas 25 ratas da linhagem Wistar distribuídas em cinco grupos. Grupo 1: controle (n=5) ratas com prenhez identificada sem exposição ao halotano. Grupo 2: (n=5) ratas expostas ao halotano no período estroal. Grupos 3: (n=5) ratas expostas ao halotano no 8^o-10^o dia de prenhez. Grupo 4: (n=5) ratas expostas ao halotano no 11^o a 13^o dia e Grupo 5:(n=5) 14^o a 16^o dia. Os animais foram expostos ao halotano (0,8%) por 30 minutos com oxigênio a 100%. Os filhotes, analisados quanto ao tamanho, peso, alterações morfológicas e comprimento do cordão umbilical e número de nascidos vivos por grupo. Os resultados foram expressos como média (+-), desvio padrão da média, seguida de teste de Tukey. **Resultados:** Ocorreram alterações morfológicas no período gestacional e alterações no peso, tamanho e comprimento do cordão umbilical de filhotes do grupo 2 (3,05 ± 0,10 cm, 3,17 ± 0,17g e 2,57 ± 0,12 cm), sendo significativo (p<0,005). **Conclusão:** Halotano não comprometeu a fertilização dos animais estudados, mas promoveu o aparecimento de alterações morfológicas no primeiro período gestacional, mostrando o risco de teratogenicidade e consequentemente, a inviabilidade embrionária.

Palavras chave: halotano, gestação, ratos

ABSTRACT

Objective: identify morphological changes in embryonic development in rats exposed to gestational and halothane estrous period and assess the gestational period of greatest risk. **Material and Methods:** project approved by Commission standards and research ethics at UNIFENAS (Federal University of Alfenas) (Opinion No. 11^a /2008). We used 25 female Wistar rats, distributed in five groups. Group 1: control (n=5) rats with pregnancy identified without exposure to halothane. Group 2: (n=5) rats exposed to halothane during estrous period. Groups 3: (n=5) rats exposed to halothane in 8th to 10th day of pregnancy. Group 4: (n=5) rats exposed to halothane in 11th to 13th days of pregnancy, and Group 5: (n=5) 14th to 16th days. The animals were exposed to halothane (0.8%) for 30 minutes with 100% oxygen. The offspring of the groups was analyzed according to size, weight, morphological and umbilical cord length and number of live births in each group. Results were expressed as mean +- standard deviation, followed by Tukey test. **Results:** morphological changes in different periods of pregnancy and changes in weight, size and length of the cord in group 2 (3.05±0.10 cm, 3.17±0.17 g and 2.57±0.12 cm) being significant (p<0.005). **Conclusion:** halothane did not affect the fertility of the animals studied, but promoted the appearance of morphological changes in the first period of pregnancy, showing the risk of teratogenicity and therefore the embryonic infeasibility.

Key words: halothane, pregnancy, rats

INTRODUÇÃO

O halotano é um anestésico volátil, amplamente utilizado para a realização de procedimentos cirúrgicos, em que é necessária a utilização da anestesia geral. Foi introduzido na década de 50, sendo um dos primeiros hidrocarbonetos halogenados modernos, servindo, além do uso clínico, como padrão de comparação de novas drogas anestésicas.¹ É muito utilizado na clínica cirúrgica veterinária, incluindo o uso experimental em ratos e camundongos.²

A teratogenicidade é um fator importante na administração dos halogenados. Devido a sua alta lipossolubilidade e baixo peso molecular, os anestésicos halotano, sevoflurano, isoflurano e enflurano atravessam rapidamente a placenta, porém não ocorre depressão da atividade respiratória do feto, a menos que o plano anestésico utilizado seja muito profundo.³

No passado, alguns estudos demonstraram que o halotano possuía um efeito teratogênico, porém, hoje se sabe que as condições das pesquisas, tais como as concentrações do anestésico, eram diferentes das comumente utilizadas para humanos. Nos dias atuais, é conhecido que o halotano reduz a fertilidade, viabilidade embrionária, número e tamanho de fetos em camundongos, porém, ainda não é bem elucidado como isso acontece.⁴

Um estudo avaliou camundongas expostas ao halotano, sevoflurano e isoflurano e encontrou alterações somente no grupo exposto ao halotano. Na avaliação do tamanho fetal, os fetos das fêmeas do grupo-halotano foram menores que os fetos dos demais grupos. Com relação aos índices reprodutivos, o autor encontrou que as fêmeas do grupo halotano apresentaram menores taxas de fêmeas

gestantes. Em todos os grupos, não foram observadas alterações histopatológicas em órgãos das fêmeas expostas, ou em fetos, nem alterações morfológicas externas que evidenciassem teratogenia.⁴

Em outro estudo, em 23 fêmeas de camundongas gestantes expostas a 4 CAM (Concentração Alveolar Mínima) diárias de halotano, durante 9 semanas prévias à concepção e durante a gestação, foi observado efeito letal em 14 fêmeas, sendo que de 9 fêmeas sobreviventes, 8 tiveram 100% de embriotoxicidade. A fêmea que progrediu com a gestação, teve 4 fetos, sendo que estes apresentavam malformações como fenda palatina, anoftalmia, assimetria de crânio, costelas ou vértebras fusionadas e anormalidades em membros.⁵ No entanto, a exposição realizada pelo autor, produziu níveis diferentes dos encontrados em centros cirúrgicos e não mostrou evidência experimental, indicando que a exposição a concentrações subanestésicas de halotano seja consideravelmente embriotóxica ou teratogênica.

Em um estudo experimental, não foi encontrado qualquer efeito teratogênico em 5178 filhotes de 305 ratas da linhagem Sprague-dawley, expostas ao halotano e outros halogenados, por 6 horas diárias, em três períodos distintos de gestação, sendo avaliada a conformação morfológica dos recém nascidos e futuras progênes. Não foram observados efeitos prejudiciais na reprodução destas fêmeas, concluindo os autores que o halotano não produz problemas de reprodução ou fertilidade em camundongos.⁶

Outro estudo, realizado com fêmeas de camundongos da linhagem Swiss ICR, expostas por 2 horas durante a prenhez aos anestésicos

inalatórios halotano, isoflurano e metoxiflurano, em quatro exposições com intervalos de 2 dias, os filhotes não apresentaram nenhuma alteração, como má formação fetal. Este trabalho se estendeu até os 15 meses de vida dos mesmos, que continuaram a ser expostos aos anestésicos, com mais 24 exposições após o parto, sendo uma a cada três dias. Ao final, os 1973 descendentes foram avaliados e não se constatou qualquer alteração carcinogênica ou teratogênica.⁷

O halotano pode induzir alterações estruturais visíveis em filhotes de ratos expostos a concentrações durante a gestação, como alterações degenerativas no córtex cerebral.⁸ Estudos feitos com ratas prenhas expostas ao halotano no período entre 8 - 12 dias de gestação não mostraram teratogenicidade, em relação a perda fetal, mas significativa alteração no peso.^{4,9}

Sendo assim, o presente estudo objetivou conhecer as alterações morfológicas e de viabilidade embrionária (peso, tamanho, comprimento do cordão umbilical) de filhotes de ratas expostas ao halotano no período estral e gestacional, ressaltando a relação risco-benefício do seu uso em animais gestantes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 25 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), hípidos, fêmeas, distribuídos em cinco grupos. Grupo 1- Controle (N=5): ratas com prenhez identificada, sem exposição ao halotano. Grupo 2- (N=5): ratas expostas ao halotano no período estral, antes da concepção. Grupo 3- (N=5): ratas

expostas ao halotano no período de embriogênese (8° ao 10° dia de prenhez). Grupo 4- (N=5): ratas expostas ao halotano no período fetal (11° ao 13° dia de prenhez) e Grupo 5- (N=5): expostas ao halotano do 14° ao 16° dia de prenhez.

Os animais foram criados no biotério da Universidade José do Rosário Vellano (Alfenas, MG, Brasil), com controle de temperatura entre 20 e 24° C e ciclo claro/escuro (12 horas), mantidos em caixas padronizadas e tratados com e água e ração *ad libitum*. Todos os procedimentos realizados estavam de acordo com as normas da Comissão de Ética e Pesquisa da Universidade de Alfenas (Parecer N° 11/2008).

Foram realizados esfregaços vaginais de animais expostos ao halotano no período estral antes da concepção. Os resultados foram comparados, com aqueles obtidos de esfregaços vaginais do grupo controle (não expostos ao halotano).

O procedimento experimental do esfregaço vaginal foi realizado de acordo com técnica descrita por Marcondes e Gomes.¹⁰

Para a realização do esfregaço vaginal, foi utilizado um conta gotas de calibre adequado, preparando-o com um pequeno volume de soro fisiológico. Segurou-se a rata pelo dorso e, em seguida, cerca de 0,5 cm da ponta do conta gotas contendo soro fisiológico foi introduzido na vagina da rata. Aspirou-se, colhendo assim o fluido vaginal.

O material colhido foi estendido numa lâmina limpa e examinado ao microscópio com aumento médio. Para a conservação do material, utilizou-se a coloração de Shor (Figura 1).

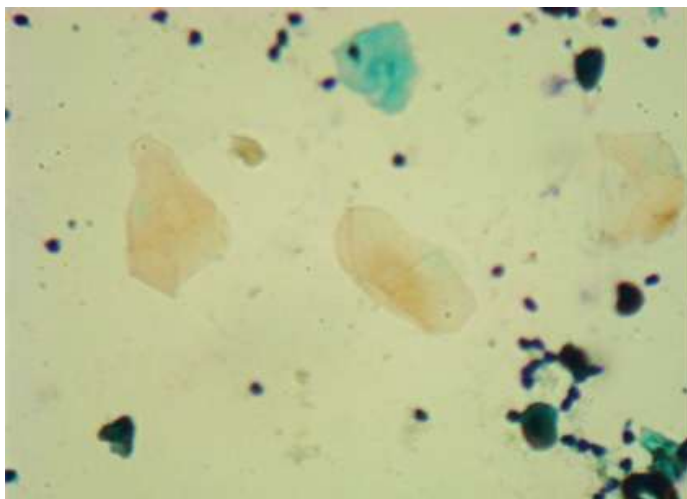


Figura 1 - Lâmina de esfregaço vaginal de ratas expostas ao halotano no período estral

A anestesia foi induzida nos animais durante 30 minutos com halotano (0.8%) administrado por meio de um cone facial com oxigênio a 100% e uso do vaporizador universal, com fluxo de admissão de gases 1L/min, conectado a aparelho com filtro circular, dando-se um ligeiro escape, a fim de se

evitar sobredoses por reinalação.¹¹ A monitorização foi realizada por meio da observação dos reflexos, frequência respiratória e coloração das mucosas, bem como a vigilância constante dos reflexos comumente observados em anestesia geral (Figura 2).



Figura 2- Cone Facial utilizado na anestesia inalatória com halotano em ratos

No final do período gestacional (20º dia), o grupo controle e os grupos de ratas prenhas expostas ao halotano foram submetidos à cesariana.

O agente dissociativo, cetamina, e o fármaco miorelaxante, sedativo e analgésico, a xilazina, foram utilizados para anestesia em ratas submetidas à cesariana.

A dose de cetamina e xilazina foi de 0,1mL para cada 100g de peso do rato, da mistura de 1mL de cetamina 5% (50mg) e 1mL de xilazina 2% (20mg), por via intramuscular. ¹¹

Os filhotes, após o nascimento, foram analisados quanto ao tamanho (cm), peso (Kg) e comprimento do cordão umbilical (cm).

Para avaliação da teratogenia, utilizou-se a classificação proposta por Mazze *et al*, a saber: malformações maiores (que impediriam a sobrevivência normal do indivíduo), que incluem fenda palatina, exencefalia, deformidade em membros; ou malformações menores (anormalidades que não desfigurariam ou incapacitariam o indivíduo), como membros mal posicionados, cauda curvada, entre outros. ⁶

Os resultados foram apresentados por meio do cálculo de médias \pm e erro padrão da média, por cada grupo estudado e comparados

pelo teste de Tukey, assumindo um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Os resultados obtidos neste trabalho mostram alterações morfológicas em filhotes de ratas no período de embriogênese e alterações no peso, tamanho e comprimento do cordão umbilical de filhotes de ratas anestesiadas, no período estral antes da concepção.

Os filhotes do grupo 2 apresentaram tamanho, peso e comprimento do cordão umbilical menores ($3,05 \pm 0,10$ cm, $3,17 \pm 0,17$ g e $2,57 \pm 0,12$ cm), respectivamente, em relação ao grupo controle ($3,97 \pm 0,04$ cm, $5,33 \pm 0,33$ g, $3,14 \pm 0,04$ cm), sendo estatisticamente significativo ($p < 0,005$) (Tabela 1).

Tabela 1- Parâmetros fetais avaliados ao nascimento (Valores expressos $X \pm$ EPM)

	1	2	3	4	5
Comprimento do cordão umbilical (cm)	$3,1 \pm 0,1 \text{cm}^a$	$2,6 \pm 0,1 \text{cm}^b$	$3,1 \pm 0,1 \text{cm}^a$	$2,9 \pm 0,1 \text{cm}^a$	$3,1 \pm 0,2 \text{cm}^a$
Peso corporal (g)	$5,4 \pm 0,4 \text{g}^a$	$3,2 \pm 0,2 \text{g}^b$	$4,4 \pm 0,5 \text{g}^a$	$5,3 \pm 0,7 \text{g}^a$	$6,2 \pm 0,5 \text{g}^a$
Comprimento (tamanho) (cm)	$4,0 \pm 0,1 \text{cm}^a$	$3,2 \pm 0,1 \text{cm}^b$	$3,6 \pm 0,1 \text{cm}^a$	$3,5 \pm 0,2 \text{cm}^a$	$4,0 \pm 0,3 \text{cm}^a$

= a) não apresentam diferenças estatísticas significativas

≠ b) resultados foram estatisticamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Os filhotes das ratas expostas ao anestésico antes da concepção (período estral) foram os que apresentaram maiores alterações. Acreditamos que o halotano possa promover

uma toxicidade sobre os ovócitos, comprometendo o desenvolvimento embrionário (Figura 3).



Figura 3- Foto comparativa entre um filhote do Grupo Controle e do Grupo 2 (período estral).

No grupo 3 (ratas expostas ao halotano no período de embriogênese - 8º ao 10º dia de prenhez), houve o aparecimento de filhotes com ausência na formação de estruturas vitais,

importantes para o desenvolvimento fetal, mostrando o risco da teratogenicidade (Figura 4).



Figura 4 - Filhote do Grupo 3: ausência de estruturas vitais para o desenvolvimento fetal.

O número de filhotes vivos do grupo 5 (correspondente ao terço final da gestação - 14º ao 16º dia de prenhez) foi menor comparado aos

grupos estudados, com fetos sem placentas e mortos ao nascimento (Tabela 2 e Figura 5).

Tabela 2 – Número de filhotes vivos por grupo ao nascimento.

Grupos	No de filhotes vivos ao nascimento
1	11 ± 1 ^a
2	13 ± 1 ^a
3	13 ± 1 ^a
4	15 ± 1 ^a
5	7 ± 1 ^b

b=p<0,05



Figura 5 - Filhotes do grupo 5: Morte fetal

DISCUSSÃO

Na avaliação da fase estral, observamos alterações nos filhotes de ratas anestesiadas no estro, antes da concepção (Grupo 2), os quais apresentaram tamanho, peso e comprimento do cordão umbilical menores. Com relação ao tamanho fetal, os fetos dos grupos expostos ao halotano apresentaram tamanho menor, em relação ao grupo controle, principalmente os filhotes de ratas expostas no período estral, o que concorda com estudo que encontrou redução no tamanho de fetos de camundongas expostas a 1% de halotano durante 9 semanas.⁵

Coate *et al*, verificaram retardo no desenvolvimento em fetos de ratas prenhes expostas a 1 ppm de halotano associado a 50 ppm de óxido nítrico do 6º ao 15º dia de gestação,¹² demonstrando que a exposição ao halotano leva a um retardo no desenvolvimento dos fetos, o que também foi encontrado em nosso estudo, pela diferença significativa no tamanho, peso e comprimento do cordão umbilical de filhotes do grupo de ratas expostas ao halotano no período estral.

Na avaliação da fase embriogênica (Grupo 3), houve o aparecimento de filhotes com ausência na formação de estruturas vitais, importantes para o desenvolvimento fetal, mostrando o risco da teratogenicidade.

Em uma pesquisa experimental, após expor fibroblastos de hamsters chinesas a 2% de halotano durante 24 horas, foi observado que, durante a exposição ao anestésico, a divisão celular foi reduzida. No entanto, após remoção do anestésico, houve recuperação das células, as quais voltaram a se dividir normalmente, sendo o efeito da exposição ao inalatório transitório. O autor sugere que o halotano diminui a taxa de absorção de timidina no DNA, consequentemente interferindo em sua síntese, e também apresenta evidências que concentrações menores que 2% prolongam a fase G2 do ciclo celular, interferindo na mitose. Desse modo, a hipótese com base nas evidências desse estudo, é que a menor viabilidade dos embriões de ratas expostas ao halotano deve-se a este prolongamento que retarda o desenvolvimento embrionário, uma vez que, logo após a fertilização, o zigoto passa pelo processo de

clivagem, consistindo em várias divisões mitóticas que visam o aumento do número de células.¹³ Acredita-se que esta hipótese também explicaria a ausência no desenvolvimento fetal nos filhotes de ratas submetidas ao halotano na primeira semana de gestação no presente trabalho (Grupo 3).

Outra possível explicação para o maior número de embriões comprometidos é que os mesmos podem ter origem de uma onda folicular anterior, onde os óvulos liberados de folículos maduros não foram fertilizados, já que as ratas ovulam espontaneamente, ou também por terem sido fertilizados próximo ao final de sua vida fértil, em consequência de uma cobertura tardia. Hafez afirma que animais de laboratório mostram porcentagens elevadas de gestações anormais e uma redução do número de filhotes nascidos, à medida que a idade do óvulo aumentou antes da fertilização. Assim, o autor esclarece que estes ovos podem ou não se implantar e, neste caso, embriões não viáveis são produzidos na maioria das vezes.¹⁴

Coate *et al* observaram em ratos machos e fêmeas os efeitos da exposição ao halotano e ao óxido nitroso em concentrações de 1ppm com 50 ppm, e 10 ppm com 500 ppm, respectivamente, durante 12 semanas por 7 horas diárias, obtendo diminuição da ovulação de ratas em ambas as concentrações de exposição.¹² Entretanto, no presente estudo, não foi observado diminuição da ovulação nos grupos halotano, pois ao somar, o número de embriões viáveis e comprometidos por fêmea nestes grupos é semelhante ao número de filhotes do grupo controle.

Porém, mesmo não havendo comprometimento da ovulação, algumas explicações são sugeridas para as baixas taxas de gestação e número de implantações na

exposição ao halotano, dentre elas, estão a falha na ovulação, produção de ovócitos inviáveis, falha na fertilização ou implantação, ou perda embrionária precoce pós-implantação.⁵

No presente estudo, foram observadas malformações maiores, como ausência de estruturas vitais (Grupo 3), expostas de acordo com a classificação adotada.⁶ Alguns autores não observaram efeitos teratogênicos em fetos de ratas expostas a 10 ppm de halotano ou 20 ppm de enflurano, durante 64 dias antes de acasalamento e durante a gestação.¹⁵

Em um estudo, após exporem machos e fêmeas de três linhagens de camundongos a 16 ppm de halotano, por 7 horas diárias, 5 dias por semana, durante 6 semanas, os autores não observaram malformações em seus descendentes.¹⁶ Resultados controversos foram encontrados em outro experimento, onde os autores, após exporem ratas Sprague-dawley prenhes a 0,8% de halotano por 12 horas, uma única vez, entre o 6º e 10º dia de gestação, observaram costelas lombares e alterações em corpos vertebrais torácicos de até 50% na exposição durante a gestação.¹⁷

Na avaliação gestacional, foi observado que o número de filhotes vivos foi menor no grupo de ratas expostas no final da gestação, comparado ao grupo controle, principalmente (Grupo 5).

Este achado corrobora com os encontrados por Rosa, onde o grupo halotano de seu experimento teve menor número fetos em relação aos demais grupos.⁴ Porém, nenhuma literatura ou autor sugerem algum mecanismo que explique como o halotano ou outros anestésicos halogenados afetam a atividade reprodutiva, ao contrário do que se sabe para o óxido nitroso.¹⁸

Doenicke *et al*, observaram uma taxa muito baixa de descendentes em ratos expostos a 8000 ppm de halotano por 4 horas diárias, durante 9 semanas. Estes resultados demonstraram que a exposição ao halotano pode diminuir a viabilidade fetal, semelhante ao observado neste experimento com menor número de fetos viáveis, quando comparado ao grupo controle.¹⁹

Vários fatores podem também influenciar o tamanho da ninhada, dentre eles, o número de partos; a ninhada aumenta após o primeiro e diminui após o quinto parto,²⁰ além de fatores genéticos importantes, como diferenças significantes entre várias linhagens.^{21,22}

CONCLUSÃO

O halotano não comprometeu a fertilização dos animais no período estral, mas promoveu diminuição do tamanho, peso e comprimento do cordão umbilical dos filhotes destes animais anestesiados no período pré-concepção. Este efeito pode estar relacionado à

produção de ovócitos inviáveis ou a uma possível toxicidade sobre os mesmos.

O anestésico também promoveu o aparecimento de alterações morfológicas no primeiro período gestacional, mostrando o risco de teratogenicidade e, conseqüentemente, a inviabilidade embrionária. A morte fetal no final da gestação também foi evidenciada.

A concentração da droga estudada em ratos mostrou-se segura, quanto ao risco de morte durante anestesia.

Diante disso, afirma-se que os resultados do presente estudo demonstraram que o halotano afetou a viabilidade embrionária e gestacional. No entanto, mais pesquisas sobre a teratogenicidade, relação risco benefício materno-fetal produzida pelo halotano e outros halogenados devem ser investigados, bem como a melhor monitorização de doses administradas durante a anestesia, o que poderá aumentar a segurança no seu uso clínico e experimental.

AGRADECIMENTOS à Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS) pelo apoio financeiro no desenvolvimento desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Trevor AJ, Miller RD. Anestésicos gerais. In: Katzung BG. Farmacologia básica e clínica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p.367-70.
2. Hall LW, Clarke KW. Anestesia veterinária. 8ª ed. São Paulo: Manole; 1987.
3. Oliva VNLS. Anestesia inalatória In: Fantoni DT, Cortopassi SRG. Anestesia em cães e gatos. São Paulo: Roca. 2002. p.174-83.
4. Rosa AC. Efeitos das exposições ao halotano, isoflurano e sevoflurano na fertilidade, viabilidade embrionária e gestação em fêmeas de camundongos [dissertação]. Lages: Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina; 2010.
5. Wharton RS, Wilson AI, Mazze RI, Baden JM, Rice SA. Fetal morphology in mice exposed to halothane. *Anesthesiology*. 1979;51(6):532-7.
6. Mazze RI, Fujinaga M, Rice SA, Harris SB, Baden JM. Reproductive and teratogenic effects of nitrous oxide, halothane, isoflurane, and enflurane in Sprague-Dawley rats. *Anesthesiology*. 1986;64(3):339-44.
7. Eger EI, White AE, Brown CL, Biava CG, Corbett TH, Stevens WC. A test of the carcinogenicity of enflurane, isoflurane, halothane, methoxyflurane, and nitrous oxide in mice. *Anesth Analg*. 1978;57(6):678-94.
8. Baeder C, Albrecht M. Embryotoxic/teratogenic potential of halothane. *Int Arch Occup Environ Health*. 1990;62(4):263-71.
9. Pope WD, Halsey MJ, Landsdown AB, Bateman PE. Lack of teratogenic dangers

- with halothane. *Acta Anaesthesiol Belg.* 1975;23:169-73.
10. Marcondes MCC, Gomes Duque M. Manual fisiologia da reprodução. Campinas: Unicamp; 2004.
 11. Massone F. Anestesiologia veterinária-farmacologia e técnicas. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
 12. Fujinaga M. Teratogenicity of nitrous oxide. *Best Pract Res Clin Anesthesiol.* 2001; 15(3):363-75.
 13. Sturrock JE. Effect of volatile anaesthetics on cell survival as measured by colony forming ability. *Br J Anaesth.* 1975;47(8):831-5.
 14. Hafez ESE. Reprodução animal. São Paulo: Manole; 1995. Transporte e sobrevivência dos gametas. p.146-66.
 15. Coate WB, Ulland BM, Lewis TR. Chronic exposure to low concentrations of halothane-nitrous oxide: lack of carcinogenic effect in the rat. *Anesthesiology.* 1979;50(4):306-09.
 16. König BD. Estratégia do cuidado parental de camundongos (*Mus musculus*): conflito pai-filho. Tolerância de outros filhotes e a resposta a escassez de alimentos [tese]. Konstanz: University of Konstanz; 1985.
 17. Krackow S, Gruber F. Sex ratio and litter size in relation to parity and mode of conception in three inbred strains of mice. *Laboratory Animals.* 1990;24:345-52.
 18. Doenicke A, Wittman R, Heinrich H, Pausch H. The abortive effect of halothane. *Anesth Analg.* 1975;32:41-6.
 19. Bussard DA, Swelling RK, Peterson C, Ishaq M. Fetal changes in hamsters anesthetized with nitrous oxide and halothane. *Anesthesiology.* 1974;41(3):275-8.
 20. Halsey MJ, Green CJ, Monk SJ, Dore C, Knight JF, Luff NP. Maternal and paternal chronic exposure to enflurane and halothane: fetal and histological changes in the rat. *Br J Anaesth.* 1981;53(3):203-15.
 21. Bruce DL. Murine fertility unaffected by traces of halothane. *Anesthesiology.* 1973;38(5): 473-7.
 22. Basford AB, Fink R. The teratogenicity of halothane in the rat. *Anesthesiology.* 1968;29 (6):1167-73.

Correspondência: Edilaine Assunção Caetano - Rua Tiradentes, 2969, Jardim São Carlos - Alfenas, MG – CEP 37130-000. - Telefone e fax: 35-3291-9500. Celular 35-9203-0407 - E-mail: dipatinga@hotmail.com