



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (DECBI)**  
**LABORATÓRIO DE FISIOPATOLOGIA EXPERIMENTAL - LAFEx**



**LUDMILA NOGUEIRA SILVA**

**Efeitos renais da exposição aos anestésicos inalatórios em camundongos  
adultos saudáveis**

Ouro Preto

2024

LUDMILA NOGUEIRA SILVA

**Efeitos renais da exposição aos anestésicos inalatórios em camundongos  
adultos saudáveis**

**Aluna: Ludmila Nogueira Silva**

**Orientador: Frank Silva Bezerra**

**Coorientador: Pedro Alves Machado  
Junior**

Monografia apresentada ao  
Departamento de Ciências Biológicas  
do Instituto de Ciências Exatas e  
Biológicas da Universidade Federal de  
Ouro Preto como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Bacharel em  
Ciências Biológicas.

Ouro Preto - Minas Gerais – Brasil

2024

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S586e Silva, Ludmila Nogueira.  
Efeitos renais da exposição aos anestésicos inalatórios em camundongos adultos saudáveis. [manuscrito] / Ludmila Nogueira Silva. - 2024.  
68 f.: il.: color., tab..

Orientador: Prof. Frank Silva Bezerra.  
Coorientador: Me. Pedro Alves Machado-Júnior.  
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.  
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas .

1. Anestésicos Inalatórios. 2. Isoflurano. 3. Sevoflurano. 4. Desflurano.  
5. Estresse Oxidativo. 6. Inflamação. 7. Doenças Renais. I. Bezerra, Frank Silva. II. Machado-Júnior, Pedro Alves. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 616.61

Bibliotecário(a) Responsável: Luciana De Oliveira - SIAPE: 1.937.800



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Ludmila Nogueira Silva**

### **Efeitos renais da exposição aos anestésicos inalatórios em camundongos adultos saudáveis**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas Bacharelado da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em 14 de outubro de 2024.

#### Membros da banca

Doutor - Frank Silva Bezerra - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto  
Mestre - Pedro Alves Machado Junior - Universidade Federal de Ouro Preto  
Doutora - Ana Beatriz Farias de Souza - Universidade Federal de Ouro Preto  
Doutora - Natália Pereira da Silva Araújo - Universidade Federal de Ouro Preto

Frank Silva Bezerra, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 18/11/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Frank Silva Bezerra, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 26/11/2024, às 19:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0812552** e o código CRC **2265CB9A**.

Dedico a Lorena Ferreira Pena Magalhães (in memoriam) *“O amor é ciência de sublimação para Deus e a felicidade para crescer deve dividir-se. Não há ruptura de laços entre os que se amam no infinito do espaço na eternidade do tempo” – Emmanuel.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a toda minha família. Aos meus pais, Francisco e Rosilene, por todo amor e por me darem o privilégio de estudar e serem meu porto seguro para todos os momentos, ao meu irmão Vinícius, por ser meu companheiro, uber, exemplo de força e resiliência, e também me divertir e me irritar na mesma proporção. Agradeço ao João, por todo amor e por estar comigo nos meus dias mais felizes e nos difíceis também, me acalmando e ajudando a lidar com todo estresse, a vida é muito melhor e mais leve com você.

Um agradecimento especial a Lorena, por ter sido um exemplo de pessoa e aluna durante toda a sua vida e por me inspirar, a sua partida foi a coisa mais difícil que passei. Dumbledore, um personagem de Harry Potter, uma vez disse “Pode-se encontrar a felicidade mesmo nas horas mais sombrias se a pessoa se lembrar de acender a luz”, obrigada Lorena, por ser minha luz, e me guiar nesses dias difíceis e sombrios. Sinto sua falta todos os dias e aguardo nosso reencontro. Sou muito grata pelo prazer de ter convivido com uma pessoa tão boa, tive sorte quando Deus escolheu minha família. Para Rachel, de quem Lorena herdou sua doçura, obrigada por ser exemplo de força nesse momento difícil, agradeço a ela e ao Arlisson por terem gerado e guiado com muita maestria nossa doce estrelinha.

Aos meus colegas de curso, em especial ao ‘girls from Bio’, principalmente a Mariana, Laura, Sofia, Luiz e minha duplinha Giovana, obrigada por tornarem minha caminhada mais leve, meus dias foram mais felizes com vocês, estarei torcendo por todos sempre. Agradeço também a todos os meus amigos, que alegam meu dia com um papo rápido nos corredores da UFOP.

Agradeço aos membros do LAFEx por toda troca de conhecimento, em especial ao professor Frank pela oportunidade e orientação, graças a vocês cresci como cientista e ser humano. Agradeço ao Pedro por ter sido mais que um co-orientador, por ter sido um grande amigo e por toda ajuda e suporte dentro e fora do laboratório, e a Ana Beatriz e Elena, por serem exemplos de mulheres pesquisadoras fortes e dedicadas, obrigada por todos ensinamentos e por serem inspiração. Ao Gleidson e João Pedro

agradeço pelo apoio, amizade e risadas nesses anos. Vocês estão guardados com muito carinho em meu coração e sei que todos terão muito sucesso!

Gostaria de expressar minha sincera gratidão ao sistema de ensino público, desde o primeiro ano do ensino fundamental até o presente, fui agraciada com professores resilientes que, apesar de toda dificuldade e sucateamento, foram essenciais para minha formação e moldaram a pessoa que sou hoje, em especial a tia Márcia, que levava minhas atividades ao hospital quando fiquei internada. Agradeço com muito carinho aos professores e pesquisadores da UFOP, em especial ao professor Cristiano Azevedo.

Por fim, agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), que possibilitou a realização desse estudo, e à Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) pelo ensino público de qualidade e por todo suporte.

*“Leve na sua memória para o resto de sua vida as coisas boas que surgiram no meio das dificuldades. Elas serão uma prova de sua capacidade em vencer as provas e lhe darão confiança na presença divina, que nos auxilia em qualquer situação, em qualquer tempo, diante de qualquer obstáculo.”*

*Chico Xavier*

## RESUMO

O isoflurano, o desflurano e o sevoflurano estão entre os anestésicos inalatórios mais utilizados na prática clínica. Apenas 0,2–5% destes anestésicos são metabolizados, sendo excretados inalterados no ar exalado. Dentre os estudos que avaliaram os efeitos dos anestésicos inalatórios poucos foram realizados envolvendo os rins. Entretanto, os poucos estudos que avaliaram esse órgão apresentam controvérsias sobre a ação e desfecho envolvendo os anestésicos inalatórios. Portanto, o presente estudo avaliou os efeitos da exposição aos diferentes anestésicos no parênquima renal de camundongos C57BL/6 adultos saudáveis. 120 animais foram divididos em 3 grupos (n=40): Isoflurano (ARAUJO; LUCIO KDE; SILVA; ISOLDI *et al.*), Sevoflurano (SEV) e Desflurano (DES) e expostos a esses fármacos por 1 hora (1h) (n=10), 2 horas (2h) (n=10) e 3 horas (3h) (n=10), a um 1 CAM (concentração alveolar mínima) e expostos ao ar ambiente, grupo controle (GC) (n=10). Os animais foram eutanasiados 24 horas após o protocolo experimental, o sangue e os rins foram coletados para análises. A função renal do grupo ISO3H mostrou um aumento dos níveis de ácido úrico e creatinina em relação ao controle. A análise dos marcadores de desequilíbrio redox apresentou aumento na atividade de SOD no grupo SEV1H, em relação ao GC, e nos níveis de TBARS nos grupos SEV2H e SEV3H em relação ao GC. Os animais expostos ao DES apresentaram aumento na atividade da SOD no grupo 3h, em relação ao GC, e aumento nos níveis da CAT em todos os tempos de exposição, também em relação ao GC. As análises dos níveis de citocinas demonstraram que, os animais expostos ao ISO apresentaram aumento nos níveis de IL-6 e diminuição de IL-10 em relação ao GC, enquanto os animais expostos ao SEV apresentaram diminuição na expressão de IL-6, IL-10 e TNF em relação ao GC, os animais do grupo 3h também apresentaram diminuição na expressão dessas citocinas em relação ao grupo 1h. Já os animais expostos ao DES apresentaram aumento na expressão de IL-6 no grupo 2h em relação ao GC e DES1H, e na expressão de TNF no grupo 2h e 3h em relação ao GC. A Análise morfológica evidenciou alterações como edema intersticial, congestão e presença de focos de inflamação. Na análise morfométrica, a área do glomérulo e a área da cavidade capsular diminuíram no grupo ISO1H em relação ao GC. Nossos resultados demonstraram que os anestésicos inalatórios estudados são capazes de alterar a homeostase renal em animais sem lesão prévia.

Palavras-chave: sevoflurano, desflurano, isoflurano, toxicidade renal, anestésicos inalatórios, estresse oxidativo.

## ABSTRACT

Isoflurane, desflurane and sevoflurane are the most commonly used inhalation anesthetics in clinical practice. Only 0.2-5% of these anaesthetics are metabolized, being excreted unchanged in exhaled air. Among the studies that have evaluated the effects of inhaled anesthetics, few have involved the kidneys. However, the few studies that have evaluated this organ present controversies about the action and outcome of inhaled anesthetics. Therefore, the present study evaluated the effects of exposure to different anesthetics on the renal parenchyma of healthy adult C57BL/6 mice. 120 animals were divided into 3 groups (n=40): Isoflurane (ARAUJO; LUCIO KDE; SILVA; ISOLDI *et al.*), Sevoflurane (SEV) and Desflurane (DES) and exposed to these drugs for 1 hour (1h) (n=10), 2 hours (2h) (n=10) and 3 hours (3h) (n=10), to a 1 MAC (minimum alveolar concentration) and exposed to room air, control group (CG) (n=10). The animals were euthanized 24 hours after the experimental protocol and blood and kidneys were collected for analysis. The kidney function of the ISO3H group showed an increase in uric acid and creatinine levels compared to the control. Analysis of redox imbalance markers showed an increase in SOD activity in the SEV1H group compared to the CG, and in TBARS levels in the SEV2H and SEV3H groups compared to the CG. The animals exposed to DES showed an increase in SOD activity in the 3h group, compared to the CG, and an increase in CAT levels at all exposure times, also compared to the CG. Analysis of cytokine levels showed that the animals exposed to ISO showed an increase in IL-6 levels and a decrease in IL-10 compared to the CG, while the animals exposed to SEV showed a decrease in IL-6, IL-10 and TNF expression compared to the CG; the animals in the 3h group also showed a decrease in the expression of these cytokines compared to the 1h group. On the other hand, the animals exposed to DES showed an increase in IL-6 expression in the 2h group compared to the CG and DES1H, and in TNF expression in the 2h and 3h groups compared to the CG. Morphological analysis showed alterations such as interstitial edema, congestion and the presence of foci of inflammation. In the morphometric analysis, the area of the glomerulus and the area of the capsular cavity increased in the ISO1H group compared to the CG. Our results show that the inhaled anesthetics studied can alter renal homeostasis in animals without previous injury.

Keywords: sevoflurane, desflurane, isoflurane, renal toxicity, inhalation anesthetics, oxidative stress.

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1-</b> Função renal dos animais expostos aos anestésicos inalatórios em diferentes períodos.....	36
<b>Tabela 2-</b> Parâmetros de estresse oxidativo no parênquima renal pela avaliação da atividade das enzimas do sistema antioxidante.....	49
<b>Tabela 3-</b> Mediadores inflamatórios no parênquima renal .....	43
<b>Tabela 4-</b> Valores de score (percentil 25%–percentil 75%) das principais alterações histológicas encontradas nos rins dos animais dos grupos experimentais. ....	50
<b>Tabela 5-</b> Análises morfométricas dos animais expostos aos diferentes anestésicos inalatórios.....	52

## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Estrutura molecular e estrutura 3D do Isoflurano .....	15
<b>Figura 2:</b> Estrutura molecular e estrutura 3D do Sevoflurano .....	16
<b>Figura 3:</b> Estrutura química e estrutura 3D do Desflurano.....	17
<b>Figura 4:</b> Anatomia dos rins .....	18
<b>Figura 5:</b> Esquema do aparato de exposição em capela de exaustão.....	27
<b>Figura 6:</b> Alterações histopatológicas dos rins de camundongos C57BL/6 expostos ao isoflurano .....	47
<b>Figura 7:</b> Alterações histopatológicas dos rins de camundongos C57BL/6 expostos ao sevoflurano.....	48
<b>Figura 8:</b> Alterações histopatológicas dos rins de camundongos C57BL/6 expostos ao desflurano .....	49

## Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
1.1	Anestésicos Inalatórios	13
1.2	Isoflurano	14
1.3	Sevoflurano	15
1.4	Desflurano	16
1.5	Rim	17
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>19</b>
2.1	Histórico dos Anestésicos	19
2.2	Inflamação e Desequilíbrio Redox	20
2.3	Efeitos Renais	22
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>23</b>
4.1	Objetivos Gerais	24
4.2	Objetivos Específicos	24
<b>5</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>24</b>
5.1	Animais	25
5.2	Exposição aos Anestésicos Inalatórios	26
5.3	Eutanásia	28
5.4	Coleta de sangue e parâmetros hematológicos	28
5.5	Marcadores de função renal	29
5.6	Processamento histológico	29
5.7	Coloração com Hematoxilina e Eosina	29
5.8	Análises Histopatológicas	29
5.9	Análises das defesas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo	30
5.9.1	Proteínas totais	30
5.9.2	Atividade da Superóxido dismutase	31
5.9.3	Atividade da Catalase	32
5.9.3	Níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	32
5.9.4	Proteína Carbonilada	33
5.9.5	Ensaio imunoenzimático do parênquima renal	33
5.6	Análises Estatísticas	35
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>35</b>
6.6	Bioquímica do sangue	35
6.7	Marcadores do desequilíbrio redox	38

6.8	Citocinas.....	42
6.9	Aspectos histopatológicos do parênquima renal .....	45
6.10	Análises morfométricas do parênquima renal.....	51
7	CONCLUSÃO .....	53
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
	ANEXOS .....	62
	ANEXO I – Certificado de aprovação CEUA.....	62
	ANEXO II – Encontro de saberes.....	65
	ANEXO III – Menção Honrosa .....	66

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Anestésicos Inalatórios

A anestesia e analgesia é um passo essencial para a realização de procedimentos cirúrgicos tanto em humanos quanto em animais (YOO; SHIM; SONG; YANG *et al.*, 2014). Desde o uso do éter como anestésico em 1846, os anestésicos inalatórios têm sido amplamente empregados na clínica médica (WHALEN; BACON; SMITH, 2005). Esses fármacos desempenham uma função crucial na indução e manutenção da anestesia geral, proporcionando maior controle e menores efeitos adversos do que os anestésicos intravenosos (ZHENG; LU; HUANG, 2020).

Os anestésicos inalatórios têm sido utilizados para indução e manutenção da anestesia devido a suas inúmeras vantagens como a rápida sedação, relaxamento muscular, analgesia, metabolização pouco dependente ou independente do fígado e dos rins, o que reflete em um menor tempo de recuperação anestésica (ROBINSON; TOLEDO, 2012; SAKAI; CONNOLLY; KLAUCK, 2005). O isoflurano, sevoflurano e desflurano estão entre os agentes anestésicos inalatórios mais utilizados na prática clínica (SARAIVA, 2003), a característica de baixo coeficiente de solubilidade sanguínea dos anestésicos inalatórios proporciona tempos de indução e recuperação mais curtos e um menor índice metabólico em comparação com anestésicos intravenosos (DUARTE; SARAIVA, 2005; STEFFEY; MAMA; BROSNAN; LUMB *et al.*, 2015).

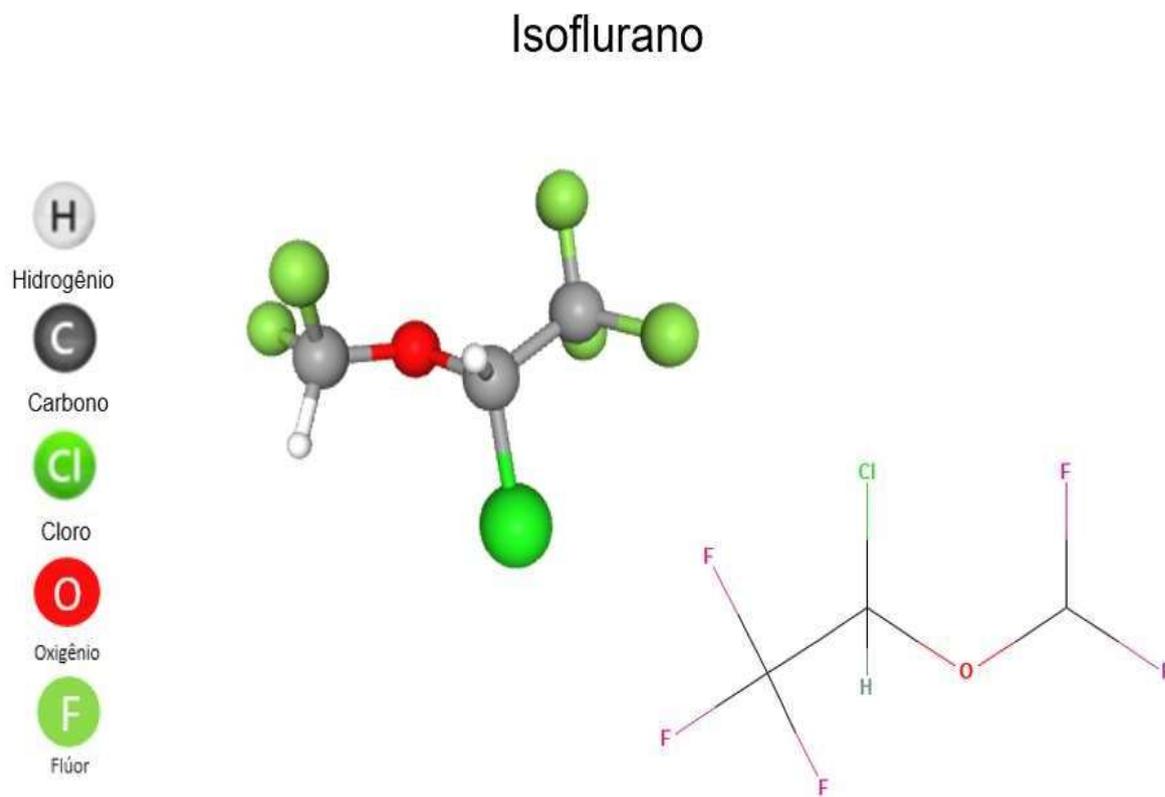
Na literatura científica existem evidências contraditórias no que diz respeito aos efeitos dos anestésicos inalatórios sobre os rins. Alguns estudos apontam efeitos protetores dos anestésicos isoflurano, sevoflurano e desflurano sobretudo em modelos de isquemia/reperfusão (HASHIGUCHI; MOROOKA; MIYOSHI; MATSUMOTO *et al.*, 2005; ROALDSEN; CIOSEK; ELIN; AL-SAAD *et al.*, 2021; SAVRAN KARADENIZ; SENTURK CIFTCI; TEFIK; OKTAR *et al.*, 2019; VIANNA; CASTIGLIA; BRAZ; VIERO *et al.*, 2009; ZHENG; LU; HUANG, 2020). Entretanto, outros estudos relatam que a exposição aos anestésicos inalatórios pode resultar em lesão e disfunção renal (GENTZ; MALAN, 2001; YOO; SHIM; SONG; YANG *et al.*, 2014).

O mecanismo de ação dos anestésicos inalatórios ocorre de maneira geral no sistema nervoso central, promovendo relaxamento muscular e sedação (CAMPAGNA; MILLER; FORMAN, 2003; SARAIVA, 2002). A ação dos anestésicos pode ocorrer de forma macroscópica sobre o cérebro e medula espinhal; microscópica, sobre sinapses e axônio resultando no aumento da atividade de canais pós-sinápticos inibitórios GABAérgicos; e sobre as membranas pré e pós-sinápticas (CAMPAGNA; MILLER; FORMAN, 2003; KHAN; HAYES; BUGGY, 2013; SARAIVA, 2002).

## **1.2 Isoflurano**

O isoflurano é um fármaco inalatório halogenado  $C_3H_2ClF_5O$  (Figura 1) que apresenta coeficiente de solubilidade sanguínea igual a 1,4, e essa característica de baixa solubilidade sanguínea confere a ele menor tempo de indução e recuperação anestésica, além de menor índice metabólico comparado aos outros antigos anestésicos inalatórios, seu índice metabólico é 0,2% (DUARTE; SARAIVA, 2005). O menor índice metabólico do isoflurano pode ser uma vantagem, já que o metabolismo de anestésicos voláteis pode resultar em catabólitos tóxicos, sobretudo em casos em que haja complicações associados às funções renais e hepáticas (CARPENTER; EGER; JOHNSON; UNADKAT *et al.*, 1986).

Figura 1: Estrutura química e estrutura 3D do Isoflurano.



Adaptado de Centro Nacional de Informação sobre Biotecnologia (2024). Resumo de composto PubChem para CID 3763, isoflurano).

### 1.3 Sevoflurano

O sevoflurano é um fármaco halogenado  $C_4H_3F_7O$  (Figura 2) introduzido no mercado a partir da década de 80 e possui baixa solubilidade em lipídios e sangue, sua grande utilização se dá devido a rápida e tolerável indução e recuperação à anestesia, seu coeficiente de solubilidade sanguínea é 0,68 (GHONEIM; AZER; GHOBRIAL; EL BELTAGY, 2015). Estudos clínicos sugerem que o sevoflurano desempenha um papel cardioprotetor (VAN ROMPAEY; BARVAIS, 2011), hepatoprotetor (BECK-SCHIMMER; BREITENSTEIN; BONVINI; LESURTEL *et al.*, 2012; LORSOMRADEE; CROMHEECKE; LORSOMRADEE; DE HERT, 2006) e nefroprotetor (LORSOMRADEE; CROMHEECKE; LORSOMRADEE; DE HERT, 2006) em cirurgias cardíacas. Esse anestésico possui fraco odor, o que torna o seu

uso mais aceitável por não causar irritação nas vias aéreas superiores e o índice de metabolização hepática desse anestésico é 2% (EGER II, 2005).

**Figura 2: Estrutura química e estrutura 3D do Sevoflurano.**



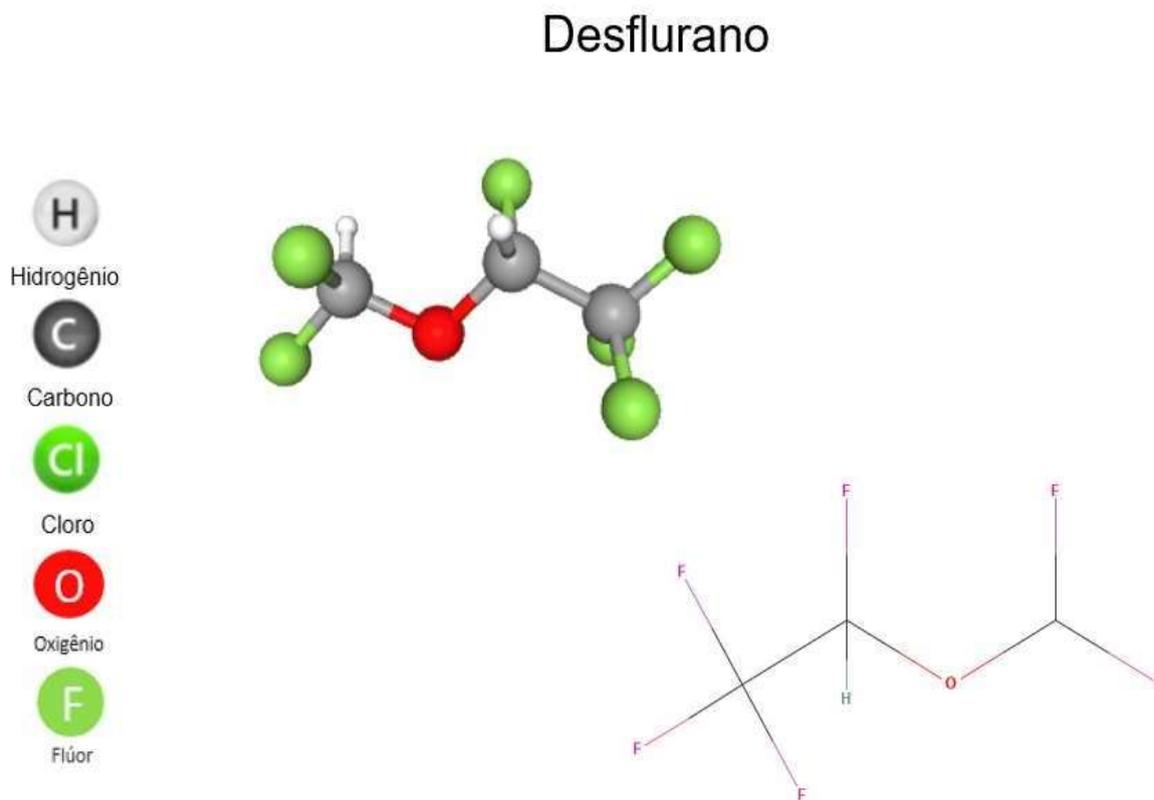
Adaptado de Centro Nacional de Informação sobre Biotecnologia (2024). Resumo de composto PubChem para CID 5206, sevoflurano).

#### 1.4 Desflurano

O desflurano  $C_3H_2F_6O$  (Figura 3) é um anestésico inalatório de baixa solubilidade no sangue e tecidos corporais apresentando a menor solubilidade entre os agentes voláteis, seu coeficiente de solubilidade sanguínea é 0,42 (STEFFEY; MAMA; BROSANAN; LUMB *et al.*, 2015). Devido a sua baixa solubilidade, o desflurano é capaz de facilitar a velocidade de indução à anestesia e o controle da sua manutenção (GHONEIM; AZER; GHOBRIAL; EL BELTAGY, 2015; PATEL; GOA, 1995). De acordo com Saraiva (2003), esse anestésico oferece boa estabilidade cardiovascular, não altera a função renal e não interfere no metabolismo hepático (0,02%), além disso, o desflurano pode ser utilizado em larga escala, especialmente

em anestesia ambulatorial, pacientes graves, com hepatopatia ou nefropatia, idosos e em procedimentos de longa duração.

**Figura 3: Estrutura química e estrutura 3D do Desflurano.**



Adaptado de Centro Nacional de Informação sobre Biotecnologia (2024). Resumo de composto PubChem para CID 42113, desflurano).

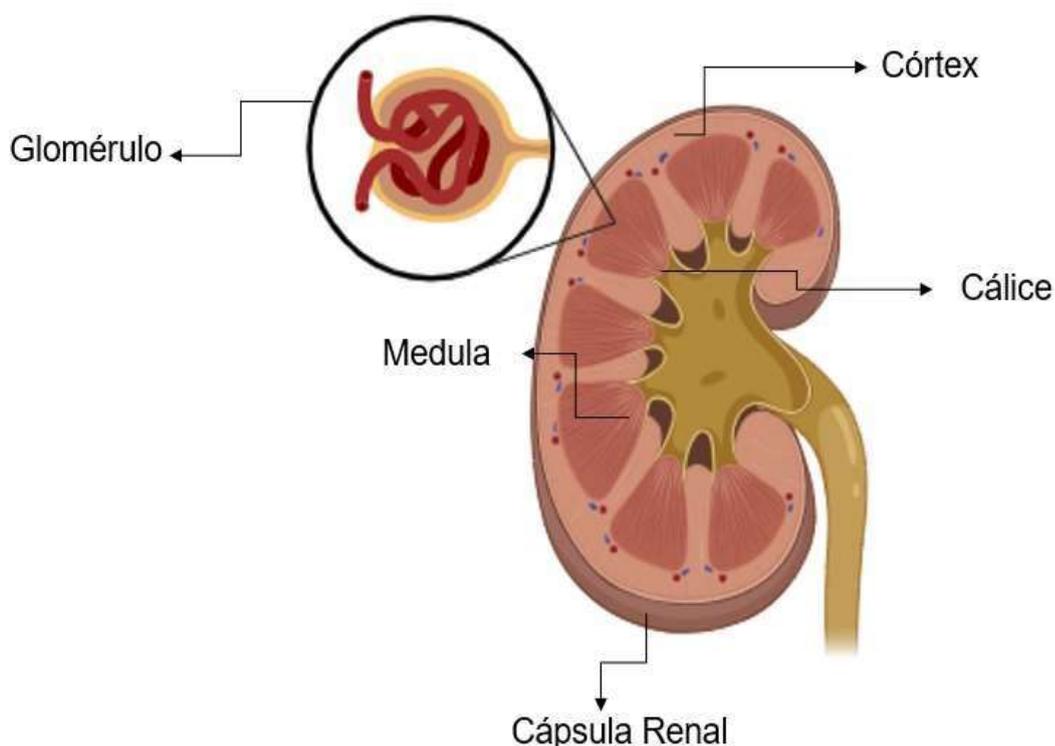
## 1.5 Rim

Os rins são órgãos pares retroperitoniais, estão localizados na cavidade abdominal posterior ao peritônio, possuem cerca de 11,25cm de comprimento (NAGATO; ROCHA; BANDEIRA; OLIVEIRA *et al.*, 2013; PIROG; ZEM; DOS SANTOS; DOS SANTOS *et al.*, 2012) e são essenciais na manutenção da homeostase, recebem de 20% a 25% do débito cardíaco em repouso, são responsáveis pela filtração do sangue, e excreção, sendo fundamentais na eliminação de resíduos metabólicos e substâncias que podem causar dano ao corpo humano em grandes quantidades (BASTOS; BREGMAN; KIRSZTAJN, 2010; NAGATO; ROCHA; BANDEIRA; OLIVEIRA *et al.*, 2013; PIROG; ZEM; DOS SANTOS; DOS SANTOS *et*

*al.*, 2012). O comprometimento da função renal, dependendo do grau, pode causar danos irreversíveis que podem causar doença renal crônica, nefropatia e hipertensão (GUPTA; NAGARAJU; BHOJARAJA; SWAMINATHAN *et al.*, 2023; SI; LIU; XU; ZHAN, 2024).

Os rins desempenham papéis vitais no corpo humano, são formados pela Capsula renal, Córtex renal, e medula renal, a medula se organiza formando as pirâmides renais, termina nas papilas renais. Na borda de cada papila estão localizados os cálices renais que drenam a urina (Figura 4). Os néfrons são as unidades funcionais dos rins, neles estão localizados os glomérulos, que são um conjunto de capilares responsáveis por receber e filtrar a urina (PIROG; ZEM; DOS SANTOS; DOS SANTOS *et al.*, 2012). Além dos glomérulos, os néfrons são compostos pelo túbulo contorcido proximal, alça de Henle e túbulo contorcido distal (MARTINI; TIMMONS; TALLITSCH; OBER *et al.*, 2006).

**Figura 4: Anatomia dos Rins**



Adaptado de (MARTINI; TIMMONS; TALLITSCH, 2009).

Compreender melhor como os anestésicos utilizados na prática clínica afetam os rins pode levar a estratégias de proteção dos órgãos vitais durante as cirurgias. Portanto, devido ao crescente uso desses anestésicos e à controvérsia em relação aos seus efeitos nos rins, este estudo teve como objetivo avaliar como diferentes anestésicos afetam o tecido renal de camundongos C57BL/6 adultos saudáveis.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Histórico dos Anestésicos**

A anestesiologia é definida como a arte e a ciência da administração de anestesia (STEFFEY; MAMA; GALEY; PUSCHNER *et al.*, 2005). A prática cirúrgica já existe há muitos séculos; entretanto, com grande sofrimento dos pacientes. O nascimento da anestesiologia moderna inclui a descoberta de dois líquidos voláteis gases, o éter dietílico e o clorofórmio (ROBINSON; TOLEDO, 2012). Paracelso (1493-1543), médico e alquimista suíço, em 1540, utilizou éter na comida de galinhas e observou a sua ação anestésica. Entretanto, foi administrado como anestésico em humanos apenas em 1842 (MAIA; FERNANDES, 2002). A administração de clorofórmio foi introduzida na medicina veterinária por Marie Jean Flourens (1794–1867) e, posteriormente, se tornou o anestésico geral mais usado na prática de anestesia cirúrgica em humanos por décadas. Entretanto, após vários relatos de toxicidade a órgãos como coração, fígado, pulmão e rim, a utilização do clorofórmio e éter como anestésicos foram abolidos (ROBINSON; TOLEDO, 2012). O halotano, introduzido na década de 1950 como uma alternativa mais segura ao clorofórmio, foi também considerado nefrotóxico em modelos experimentais (CHANG; DUDLEY; LEE; KATZ, 1975) e em humanos (GELMAN; LICHTENSTEIN, 1981).

A anestesia geral tem como objetivos abolir a consciência e resposta à dor, bem como proporcionar imobilização e relaxamento muscular necessários aos procedimentos cirúrgicos (ANTOIGNINI; CARSTENS, 2002), é uma intervenção farmacológica usada para prevenir efeitos adversos psicológicos e somáticos do trauma cirúrgico e criar condições convenientes para a cirurgia (KISSIN, 1993), já que a imobilidade é uma característica essencial que deve ser buscada e mantida durante todo o ato anestésico (DUARTE; SARAIVA, 2005). A proteção renal é um conceito crítico para anestesiológicas, nefrologistas e urologistas, já que a anestesia e a

função renal são altamente conectadas e podem interferir uma na outra (MOTAYAGHENI; PHAN; ESHRAGHI; NOZARI *et al.*, 2017).

Os anestésicos inalatórios têm sido utilizados para indução e manutenção anestésica, por oferecerem vantagens clínicas como, rápida sedação, relaxamento muscular, analgesia, excreção não dependente ou parcialmente dependente das funções hepáticas e renais e, em consequência, menor período de recuperação anestésica (MALACRIDA; RETA; PIRIZ; ROCCHICCIOLI *et al.*, 2014). Além disso, os anestésicos inalatórios apresentam poucos efeitos adversos intraoperatórios (SAKAI; CONNOLLY; KLAUCK, 2005). Os diferentes efeitos clínicos dos anestésicos podem estar relacionados à ação sobre um pequeno número de alvos moleculares específicos, contrariando o clássico ponto de vista de que todos os anestésicos agem de forma inespecífica no corpo (DUARTE; SARAIVA, 2005).

O desenvolvimento da química nuclear desde o final da década de 1940 promoveu a síntese de agentes halogenados, que foram utilizados clinicamente, alguns com grande aplicação prática. O primeiro gás anestésico volátil halogenado inflamável foi o metoxiflurano, usado em 1948 durante a 2ª Guerra Mundial. Foi retirado para uso como agente anestésico devido ao alto índice de insuficiência renal resistente à vasopressina (SARACOGLU; BILGILI; SARACOGLU, 2020). Os atuais anestésicos utilizados na prática clínica são o isoflurano, o desflurano e o sevoflurano. Entretanto, até os dias atuais não foram desenvolvidos novos agentes inalatórios ideais (SARAIVA, 2003).

## **2.2 Inflamação e Desequilíbrio Redox**

O estresse oxidativo pode ser indicativo de um desequilíbrio entre agentes antioxidantes e oxidantes, gerando desregulação das vias envolvidas nos processos redox ocasionando danos por oxidação às biomoléculas (MAS-BARGUES; GARCIA-DOMINGUEZ; BORRAS, 2022). Espécies reativas de oxigênio (EROs) são compostos que derivam do oxigênio molecular e surgem principalmente através de reações de oxidação e redução ou pela excitação de elétrons em diversos processos biológicos e químicos. Essas espécies desempenham papéis importantes em vários sistemas biológicos, mas também podem causar danos celulares se produzidas em excesso (SIES; BELOUSOV; CHANDEL; DAVIES *et al.*, 2022). O desequilíbrio redox

é gerado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e sua eliminação, e apresenta relação com processos inflamatórios e lipoperoxidação (BIRBEN; SAHINER; SACKESSEN; ERZURUM *et al.*, 2012; RAUF; KHALIL; AWADALLAH; KHAN *et al.*, 2024).

Os anestésicos inalatórios foram associados ao desequilíbrio redox e inflamação (LEE; SONG; YEUM, 2015) e seus efeitos de nesses processos foram descritos em estudos com modelos animais (ALLAOUCHICHE; DEBON; GOUDABLE; CHASSARD *et al.*, 2001; RUXANDA; GAL; RATIU; MICLAUS *et al.*, 2016) e em humanos (KARABIYIK; SARDAS; POLAT; KOCABA *et al.*, 2001; LUCIO; BRAZ; DO NASCIMENTO JUNIOR; BRAZ *et al.*, 2018). De acordo com Allaouchiche et al. (2001), estudando efeitos de anestésicos inalatórios em modelo suíno de ventilação mecânica, sugeriram que o desflurano induz estresse oxidativo pulmonar e sistêmico, enquanto sevoflurano é mais propenso a ter propriedades antioxidantes. Apesar do amplo uso dos anestésicos na medicina humana e veterinária e de ter sido tema de vários estudos, experimentos com animais usando anestésicos inalatórios são realizados sobretudo em doenças cardíacas e modelos de doenças pulmonares (LIN; JU; GAO; LI *et al.*, 2018; VAN ROMPAEY; BARVAIS, 2011). De acordo com Lee, Song & Yeum (2015) embora ainda haja incerteza envolvendo o uso dos anestésicos inalatórios, devido às variações do estado do paciente, tipo de cirurgia e quantidade administrada, estes anestésicos são considerados seguros com respeito ao estresse oxidativo e inflamação para pacientes submetidos a pequena cirurgia.

Os efeitos dos anestésicos inalatórios sobre a resposta imunológica foi revisto por Stollings et al. (2016), que descreveram que estes anestésicos podem desempenhar papel na imunossupressão, reduzindo a atividade do sistema imunológico e expressão de citocinas pró-inflamatórias. No entanto, estudos também evidenciam sua capacidade de promover a imunoativação, estimulando uma resposta imunológica pró-inflamatória. Estudos relataram os efeitos dos anestésicos inalatórios em diminuir o recrutamento e adesão de neutrófilos em modelos animais com indução de lesão (KOUTSOGIANNAKI; ZHA; YUKI, 2018; REUTERSHAN; CHANG; HAYES; LEY, 2006). Outros estudos sustentaram esses efeitos ao relatar ações inibitórias sobre a função de neutrófilos, diminuição da proliferação de linfócitos e supressão da liberação de citocinas de células mononucleares do sangue periférico (COLUCCI;

PUIG; HERNANDEZ, 2013; CRUZ; ROCCO; PELOSI, 2017). De acordo com Stollings et al. (2016), a imunossupressão e a imunoativação provocada por anestésicos inalatórios podem ser prejudiciais ou benéficas, dependendo das condições clínicas, do protocolo utilizado, dos ambientes experimentais e espécies estudadas.

### 2.3 Efeitos Renais

Evidências contraditórias também existem a respeito dos efeitos de anestésicos inalatórios sobre os rins (MOTAYAGHENI; PHAN; ESHRAGHI; NOZARI *et al.*, 2017; YAMAMOTO; MORITA; ISHIKAWA; SAKAMOTO, 2020; YOO; SHIM; SONG; YANG *et al.*, 2014; ZHENG; LU; HUANG, 2020). A literatura científica aponta efeitos protetores dos anestésicos inalatórios isoflurano, sevoflurano e desflurano, sobretudo em casos de isquemia/reperfusão (HASHIGUCHI; MOROOKA; MIYOSHI; MATSUMOTO *et al.*, 2005; ROALDSEN; CIOSEK; ELIN; AL-SAAD *et al.*, 2021; SAVRAN KARADENIZ; SENTURK CIFTCI; TEFIK; OKTAR *et al.*, 2019; VIANNA; CASTIGLIA; BRAZ; VIERO *et al.*, 2009). Em modelo de isquemia-reperfusão renal em porcos, Roaldsen et al. (2021) observaram menores níveis de albumina urinária e menos focos de membrana basal exposta nos túbulos renais de porcos submetidos à anestesia com isoflurano quando comparados àqueles anestesiados com propofol. De acordo com Hashiguchi et al. (2005), Em modelos de isquemia e reperfusão o isoflurano protege a função renal contra isquemia e reperfusão por meio da inibição da proteína quinase regulada por sinal extracelular (JNK) e da proteína quinase c-Jun NH2-terminal (SHEN; BHATT; XU; MENG *et al.*), mas não da proteína quinase p38 MAPK. Em estudo recente, Zheng et al. (2020), observaram que o desflurano inibiu a inflamação, apoptose e estresse oxidativo no parênquima renal de ratos submetidos a isquemia e reperfusão renal, apresentando efeito protetor sobre o tecido renal. Em um modelo de transplante de fígado em ratos, constatou-se que o sevoflurano atenuou a lesão renal e diminuiu a infiltração de neutrófilos, bem como diminuiu os níveis plasmáticos de fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucina (IL) -6, modulando a cascata inflamatória (KONG; ZHU; WANG; HE *et al.*, 2010). Além disso, Karadeniz et al. (2019) sugeriram que tanto o desflurano quanto o sevoflurano possuem efeitos

protetores após lesão por isquemia-reperfusão em pacientes submetidos a transplante renal com doador vivo.

Por outro lado, Yoo et al. (2014) descreveram disfunção renal grave e necessidade de diálise após cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea em pacientes que receberam sevoflurano. Embora a nefrotoxicidade do sevoflurano não tenha sido confirmada por outros estudos clínicos, de acordo com as recomendações da agência federal do departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (FDA – Food and Drug Administration), este anestésico só pode ser usado por até 1 hora com fluxo de gás fresco de 1L/min. Em contrapartida, as recomendações para o uso de sevoflurano consideram que esse pode ser utilizado por mais de 1h com um fluxo de 2L/min.

Em contrapartida, parte da literatura científica não descreve alterações negativas ou positivas dos anestésicos inalatórios sobre os rins (LITZ; HUBLER; LORENZ; MEIER *et al.*, 2002; SARAIVA, 2003). De acordo com trabalho de revisão de Gentz & Malan (2001), a lesão renal provocada pelo sevoflurano, quando presente, é na maior parte dos casos leve e sempre reversível, e existem evidências para a segurança do sevoflurano na maioria das circunstâncias clínicas (BEDIRLI; DEMIRTAS; AKKAYA; SALMAN *et al.*, 2012; DAL MOLIN; KRUEL; DE FRAGA; ALBOIM *et al.*, 2014; TURKAN; AYDIN; SAYAL; EKEN *et al.*, 2011).

### **3 JUSTIFICATIVA**

Existem divergências na literatura científica acerca dos efeitos dos anestésicos inalatórios mais utilizados na prática clínica, alguns estudos apontam efeitos positivos dos anestésicos isoflurano, sevoflurano e desflurano em modelos de lesão, como isquemia/reperfusão, entretanto alguns estudos apontam efeitos deletérios causados por esses anestésicos em modelos com ausência de lesão. Sendo assim, são necessários mais estudos sobre os efeitos desses anestésicos em modelos com ausência de lesão, para uma literatura com resultados mais homogêneos, que apresente consenso entre os estudos, e possa contribuir com o entendimento sobre a utilização desses anestésicos.

Os rins desempenham papel fundamental no corpo humano, e podem estar relacionados com o metabolismo e eliminação de fármacos, alterações na sua função podem expor os pacientes a riscos. A falta de compreensão sobre os efeitos dos anestésicos inalatórios pode tornar a utilização desses agentes pouco segura, uma vez que a exposição a esses anestésicos pode levar a alterações na função renal, promover inflamação e aumento das espécies reativas de oxigênio, ocasionar alterações na arquitetura tecidual.

Uma melhor compreensão dos efeitos de anestésicos atualmente utilizados na prática clínica sobre os rins pode promover estratégias de proteção de órgãos vitais durante as cirurgias.

## **OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivos Gerais**

Avaliar efeitos da exposição dos anestésicos inalatórios isoflurano, desflurano e sevoflurano no parênquima renal de camundongos C57BL/6 adultos saudáveis.

### **4.2 Objetivos Específicos**

Em camundongos C57BL/6 saudáveis, analisar os efeitos da exposição dos anestésicos inalatórios isoflurano, desflurano e sevoflurano, avaliando:

- Função renal
- Lesões histológicas no rim;
- Marcadores de dano oxidativo no tecido renal.
- Atividade de enzimas antioxidantes no tecido renal;
- Níveis de citocinas no tecido renal;
- Influxo de células inflamatórias no tecido renal.
- Parâmetros hematológicos e bioquímicos no sangue.

## **5 METODOLOGIA**

## 5.1 Animais

Foram utilizados 120 camundongos machos da linhagem C57BL/6, com 8-10 semanas de idade e massa corporal de aproximadamente 25 g, provenientes do Centro de Ciência Animal da Universidade Federal de Ouro Preto. Todos os procedimentos realizados durante os experimentos foram submetidos e aprovados pela Comissão de ética no uso de animais (CEUA) sob o número de protocolo – 3476160320. Os camundongos foram acondicionados em grupos de 10 por gaiola com a seguinte dimensão (40x20x10), com temperatura, luminosidade e umidades controlados, água e alimentação balanceadas *ad libitum*. Posteriormente, os animais foram primeiramente divididos em 3 grupos (n=40): isoflurano (ARAUJO; LUCIO KDE; SILVA; ISOLDI *et al.*), sevoflurano (SEV), desflurano (DES) e subsequentemente cada um dos grupos foram divididos em 4 outros grupos (n=10):

- **Grupo Isoflurano**

- Controle isoflurano (GC) - animais expostos ao ar comprimido medicinal (n=10);

- Grupo exposto ao isoflurano por 1 hora (ISO 1h) - animais expostos ao isoflurano a uma concentração de 1,4% em combinação com ar comprimido medicinal durante 1 hora (n=10);

- Grupo exposto ao isoflurano por 2 horas (ISO 2h) - animais expostos ao isoflurano a uma concentração de 1,4% em combinação com ar comprimido medicinal durante 2 horas (n=10);

- Grupo exposto ao isoflurano por 3 horas (ISO 3h) - animais expostos ao isoflurano a uma concentração de 1,4% em combinação com ar comprimido medicinal durante 3 horas (n=10);

- **Grupo Sevoflurano**

- Controle sevoflurano (GC) - animais expostos ao ar comprimido medicinal (n=10);

- Grupo exposto ao sevoflurano durante 1 hora (SEV 1h) - animais expostos ao sevoflurano a uma concentração de 2% em combinação com ar comprimido medicinal durante 1 hora (n=10);

- Grupo exposto ao sevoflurano por 2 horas (SEV 2h) - animais expostos ao sevoflurano a uma concentração de 2% em combinação com ar comprimido medicinal durante 2 horas (n=10);

- - Grupo exposto ao sevoflurano por 3 horas (SEV 3h) - animais expostos ao sevoflurano a uma concentração de 2% em combinação com ar comprimido medicinal durante 3 horas (n=10);

- **Grupo Desflurano**

- Controle desflurano (GC): animais expostos ao ar comprimido medicinal (n=10);

- Grupo exposto ao desflurano o durante 1 hora (DES 1h) - animais expostos ao desflurano a uma concentração de 6% em combinação com ar comprimido medicinal por 1 hora (n=10);

- Grupo exposto ao desflurano o durante 2 horas (DES 2h) - animais expostos ao desflurano a uma concentração de 6% em combinação com ar comprimido medicinal por 2 horas (n=10);

- Grupo exposto ao desflurano o durante 3 horas (DES 3h) - animais expostos ao desflurano a uma concentração de 6% em combinação com ar comprimido medicinal por 3 horas (n=10);

A exposição e coleta de amostras foram realizadas durante a dissertação de mestrado de Pedro Alves Machado Júnior (MACHADO-JUNIOR; DE SOUZA; CASTRO; PERUCCI *et al.*, 2022).

## 5.2 Exposição aos Anestésicos Inalatórios

Os animais dos grupos expostos ao isoflurano (ARAUJO; LUCIO KDE; SILVA; ISOLDI *et al.*), o sevoflurano (SEV) e ao desflurano (DES) foram colocados na câmara

de exposição saturada previamente com o agente inalatório, com temperatura e saturação controladas, por período de 5 minutos. A câmara de vidro transparente (40 cm de comprimento x 30 cm de largura x 25 cm de altura), com um orifício de entrada e saída, contendo em todo seu interior uma suspensão dos anestésicos inalatórios a uma concentração de 1 CAM (Concentração alveolar mínima) para os diferentes grupos expostos: os animais do grupo Isoflurano (ARAUJO; LUCIO KDE; SILVA; ISOLDI *et al.*) foram expostos ao anestésico a uma concentração de 1.4% (ENGLERT; MACIAS; AMADOR-MUNOZ; PINILLA VERA *et al.*, 2015); os animais do grupo Sevoflurano (SEV) foram expostos ao anestésico a uma concentração de 2% (ZUO; LI; XIE; MA *et al.*, 2020) e os animais do grupo Desflurano (DES) foram exposto ao anestésico a uma concentração de 6% (KILICASLAN; BELVIRANLI; OKUDAN; NURULLAHOGLU ATALIK, 2013). A exposição foi realizada em combinação com o ar comprimido medicinal (O<sub>2</sub> 21%) como carreador do fármaco em fluxo de 2L min<sup>-1</sup>, condição considerada normóxia. As concentrações no interior da câmara foram mantidas com o auxílio de vaporizadores calibrados para cada um dos anestésicos inalatórios durante os períodos definidos (Figura 5). Nos períodos descritos anteriormente, foram observados nos grupos expostos aos anestésicos (ISO, SEV e DES) a imobilidade e perda do reflexo dos animais que confirmavam o plano anestésico. Após os períodos de exposições, os animais foram retirados da câmara de inalação e devolvidos às suas caixas de origem.

**Figura 5: Esquema de exposição**



Esquema do aparato de exposição em capela de exaustão (Câmara de inalação - 40 cm de comprimento, 30 cm de largura e 25 cm de altura) (Fonte: adaptado de (MACHADO-JUNIOR; DE SOUZA; CASTRO; PERUCCI *et al.*, 2022).

### 5.3 Eutanásia

Vinte e quatro horas após a exposição dos animais aos fármacos e simulação da exposição com o grupo controle, todos os animais foram pesados e anestesiados individualmente com Ketamina (100 mg/kg), Xilazina (20 mg/kg) e Acepromazina (3 mg/kg), combinação capaz de promover sedação e tolerância cirúrgica (ARRAS; AUTENRIED; RETTICH; SPAENI *et al.*, 2001). Posteriormente, os animais foram eutanasiados por exsanguinação e tiveram os rins coletados para as análises. (MACHADO-JUNIOR; DE SOUZA; CASTRO; PERUCCI *et al.*, 2022).

### 5.4 Coleta de sangue

Alíquotas sanguíneas dos animais foram coletadas em tubos de polipropileno com 15 µL com heparina (5,0 mL (5.000 U.I./mL)). Uma alíquota de sangue (0,5 – 0,7mL) coletada foi centrifugada a 10000 rpm por 15 minutos, o plasma foi coletado e armazenado em freezer (- 80°C).

### **5.5 Marcadores de função renal**

As amostras contendo 300 µL de plasma foram enviadas para o Laboratório Piloto de Clínica Análise (Lapac) em Ouro Preto-MG, com o objetivo de determinar as concentrações dos marcadores de função renal, ureia (K-056-1), creatinina (K222-1) e ácido úrico (K139-1), que foram determinados por espectrofotometria automática no analisador clínico Randon Acess Clinical Analyzer, Wiener Lab, modelo CM-200 (WIENER LAB, Rosario, Argentina) pelo método enzimático-colorimétrico utilizando kits que foram adquiridos da Bioclin®, Quibasa (MG, Brasil).

### **5.6 Processamento histológico**

Parte do tecido renal foi seccionado e imerso em solução fixadora por 48 horas. Em seguida, o material foi processado da seguinte forma: banho em água corrente por 30 minutos, banho em álcool a 70% e 90% por 30 minutos em cada etapa, 2 banhos em álcool a 100% por 30 minutos cada; 2 banhos de xilol de 30 minutos cada; 2 banhos em parafina de 30 minutos cada e inclusão em parafina final. Após o processamento de rotina e inclusão em parafina, foram realizados cortes seriados a cinco micrômetros de espessura, que foram corados em hematoxilina-eosina (HE) para as análises morfológicas e morfométricas.

### **5.7 Coloração com Hematoxilina e Eosina**

Os cortes de rim fixados nas lâminas histológicas foram desparafinados em xilol e, posteriormente, hidratados em série decrescente de álcoois (absoluto, 90°, 80° e 70°). Após o processo de hidratação, as lâminas foram coradas pelas soluções de Hematoxilina Harris e eosina, seguido de um processo de desidratação em série crescente de álcoois. Após secagem, as lâminas foram montadas com lamínula e solução de Entellan.

### **5.8 Análises Histopatológicas**

As análises quantitativas e semiquantitativas do parênquima renal foram realizadas aplicando técnicas de Morfometria e Densitometria Digital através da digitalização de imagens. As lâminas coradas com hematoxilina-eosina foram digitalizadas com objetivas de 4 e 40X em microscópio LEICA DM5000B acoplado a

câmera digital da LEICA DFC 300FX por intermédio do Software Leica Applications e microscópio PRIMO STAR acoplado a câmera AXIOCAM 102 COLOR por intermédio do Software ZEN 3.3 (Blue edition). Com a objetiva de 4X foram obtidas de 4 a 10 imagens por animal, de acordo com o tamanho do corte renal, que foi digitalizado em toda a sua extensão. Com a objetiva de 40X foram obtidas 25 imagens por animal.

Após obtenção das imagens com as objetivas de 4 e 40X avaliamos, de maneira semiquantitativa, a presença e frequência de fenômenos degenerativos, tais como: reação inflamatória, congestão intertubular e edema intersticial. As mudanças dos parâmetros experimentais histopatológicos presentes foram quantificadas de acordo com o seguinte método de pontuação: (0) ausente; (1) quando presente entre aproximadamente 1-9%; (CARPENTER; EGER; JOHNSON; UNADKAT *et al.*) quando presente entre aproximadamente 10-33%; (3) quando presente entre aproximadamente 34-66%; (4) quando presente entre aproximadamente 67-100% da área total do tecido (MACHADO-JUNIOR; ARAUJO; SOUZA; CASTRO *et al.*, 2020).

Para quantificação das áreas das cavidades capsulares (objetiva de 40X) e da densidade glomerular (objetiva de 4X) utilizamos uma ferramenta morfométrica de análise de imagem disponível no software livre ZEN 3.3 blue edition (ZEN LIT from Zeiss Microscopy). A área do glomérulo renal foi considerada a área delimitada pelo tufo de capilares e a área da cavidade capsular foi determinada pela área do corpúsculo renal subtraída da área do glomérulo renal (FERNANDES; AGULHARI; DE SOUZA; BEZERRA *et al.*, 2019; GOMES; NORONHA; SILVA; MACHADO-JUNIOR *et al.*, 2022). A densidade glomerular foi determinada pelo cálculo do número total de glomérulos considerados histologicamente normais pela área total do córtex renal (FERNANDES; AGULHARI; DE SOUZA; BEZERRA *et al.*, 2019).

## **5.9 Análises das defesas antioxidantes e marcadores de estresse oxidativo**

### **5.9.1 Proteínas totais**

O conteúdo de proteínas totais foi determinado de acordo com o método de (LOWRY; ROSEBROUGH; FARR; RANDALL, 1951), baseando-se no princípio da redução do reagente de Folin-Ciocalteu ao reagir com aminoácidos aromáticos,

catalisada por íons cobre, em meio alcalino, formando uma coloração azul. De forma resumida, as soluções de trabalho foram preparadas da seguinte maneira:

Solução (sulfato de cobre e citrato de sódio), reagente B (carbonato de sódio e hidróxido de sódio) e reagente C (reagente A + reagente B). Esta solução foi preparada no momento do teste. O reagente D foi preparado com água destilada e o reagente de Folin-Ciocalteu. Para a realização da dosagem, fragmentos de 100 mg do tecido homogeneizado com 1000  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (pH 7,0) foram utilizados. Em seguida, centrifugados por 10 minutos a 12000 rpm a 4°C. Uma diluição de 10x da amostra foi realizada de maneira que o volume final obtido foi de 100  $\mu\text{L}$ . Uma curva padrão foi construída utilizando albumina de soro bovina foi realizada para determinação da concentração das amostras. O branco usado para zerar o espectrofotômetro foi feito apenas com 100  $\mu\text{L}$  de água destilada e os demais reagentes utilizados nas amostras. Posteriormente, 1 mL do reagente C foi adicionado em todos os tubos (incluindo o branco e padrões). A mistura foi agitada no vórtex e mantida em temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida, foram adicionados, em cada tubo, 100  $\mu\text{L}$  do reagente D. O volume foi misturado e incubado em temperatura ambiente, no escuro, por 30 minutos. Após o período de incubação, as amostras foram lidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 660 nm. A equação da reta obtida pela regressão linear dos pontos com concentração conhecida de albumina foi determinada e utilizada para determinar a concentração de proteínas no homogenato renal.

### **5.9.2 Atividade da Superóxido dismutase**

A atividade da Superóxido Dismutase (SOD) foi mensurada no parênquima renal seguindo o método de (MARKLUND; MARKLUND, 1974). Esse método se baseia na capacidade da SOD em inibir a auto-oxidação do pirogalol, sendo assim, quanto maior a concentração de SOD na amostra, menor é a auto-oxidação do pirogalol. A SOD compete com o  $\text{O}_2^-$  formado pela auto-oxidação do pirogalol, que é responsável pela redução do MTT á cristais de formazana. Nesta análise foram utilizados um fosfato de potássio (50mM), Pirogalol (15mM), MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2H]-2,5-difenilterazolio) (1,25 mM) e DMSO (dimetilsulfóxido). Para a realização da dosagem, 30  $\mu\text{L}$  sobrenadante do homogenato renal foi pipetado em placa de 96 poços seguido a adição dos reagentes.

A placa foi incubada por 5 minutos a 37°C, logo após 150 µL de DMSO foram adicionados para cessar a reação. Posteriormente, a placa foi lida em leitora de microplaca com absorvância no UV/VIS no comprimento de onda de 570 nm. Os valores da leitura de absorvância foram convertidos em unidade de SOD pela subtração do valor de absorvância da amostra pelo valor do branco, seguido pela divisão desse valor pelo encontrado na subtração do padrão pelo branco. Os resultados foram corrigidos pelo conteúdo de proteína total na amostra. O resultado final foi representado em U/mg de proteína.

### **5.9.3 Atividade da Catalase**

A atividade da Catalase (CAT) foi avaliada pelo decréscimo da absorvância do peróxido de hidrogênio no comprimento de onda de 240 nm, baseado no protocolo de Aebi (AEBI, 1984). Resumidamente, 30 µL do sobrenadante do homogenato tecidual foram utilizados para a análise e foram utilizados os reagentes: tampão fosfato (50mM) e peróxido de hidrogênio (35%). Após o preparo dos reagentes foi iniciada a leitura em espectrofotômetro. O tampão com o peróxido de hidrogênio (10mM) foi aliqotado juntamente com cada amostra em cubeta de quartzo (970 µL e 30 µL, respectivamente) e lidos a 240 nm durante 60 segundos, com registros a cada 30 segundos. O tampão fosfato foi utilizado como branco para zerar o equipamento. A atividade da catalase foi determinada pela diminuição da absorvância do peróxido de hidrogênio a 240 nm, e as concentrações foram obtidas de acordo com a Lei de Lambert Beer, utilizando o coeficiente de extinção molar do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (39,4 mM cm<sup>-1</sup>) onde 1 U equivale a 1 µmol de hidrólise de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto, por mL. O resultado final foi corrigido pelo valor de proteína total de cada amostra e expresso em U/mg de proteína.

### **5.9.3 Níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico**

A peroxidação lipídica foi determinada através do ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) utilizando o método descrito por Buege (1978). A determinação da concentração de TBARS se baseia na capacidade do ácido tiobarbitúrico (TBA) em se ligar a lipídeos oxidados. Resumidamente, 100 mg do parênquima renal foram homogeneizados com 1 mL de tampão por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi retirado e usado como amostra biológica. 500 µL do

sobrenadante do homogenato foram misturados com ácido tricloroacético (TCA) (28% p/v em HCL 0,25N) e TBA (1% em ácido) e colocados em banho de gelo. O precipitado foi removido por centrifugação a 13000 rpm por 10 minutos a 4° C, e a absorbância do sobrenadante foi determinada a 535 nm. A concentração de TBARS foi determinada utilizando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ), seguindo a lei de Lambert Beer. Os resultados foram expressos em U/ml/mg proteína (SOARES; CAMPOS; PENA; BANDEIRA *et al.*, 2016).

#### 5.9.4 Proteína Carbonilada

Espécies reativas de oxigênio podem promover alterações em proteínas estruturais, causando modificações oxidativas e formação de compostos carbonílicos, que podem ser detectados por espectrofotometria. A determinação de proteínas carboniladas foi realizada utilizando um protocolo adaptado do método descrito por (REZNICK; PACKER, 1994). Resumidamente, 250  $\mu\text{L}$  de TCA 10% foram adicionados a 250  $\mu\text{L}$  do sobrenadante do homogeneizado renal em tubos de polipropileno e misturados em vórtex e centrifugados por 10 minutos a 5000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi misturado com 250  $\mu\text{L}$  de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH). As amostras foram incubadas em temperatura ambiente e no escuro, por uma hora com agitação em vórtex a cada 15 minutos. Ao final do período de incubação foram acrescentados às amostras 250  $\mu\text{L}$  de TCA, seguido de agitação e centrifugação à 4 °C por 10 minutos a 5000 rpm. O sobrenadante foi descartado e as amostras foram lavadas com 500  $\mu\text{L}$  da mistura de etanol/acetato de etila (1:1), seguidos de centrifugação. Após a segunda lavagem das amostras com a solução de etanol/acetato de etila, o sobrenadante foi descartado e 500  $\mu\text{L}$  de Dodecil sulfato de sódio (SDS) 6% foram adicionados aos microtubos que foram agitados em vórtex e centrifugados à 10000 rpm por 10 minutos à 4°C. Os sobrenadantes foram lidos em espectrofotômetro a 370 nm. A concentração de proteína carbonilada nas amostras foi determinada de acordo com a equação de Lambert Beer, utilizando o coeficiente de extinção molar do DNPH ( $22 \times 10^5 \text{ M.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ ) obtendo os resultados em nmol/mL. Os resultados foram corrigidos pelo valor de proteínas totais das amostras, sendo expressos como nmol/mg de proteína.

#### 5.9.5 Ensaios imunoenzimático do parênquima renal

Sobrenadantes advindos da trituração de fragmentos do rim foram conservados em temperatura de 80°C negativos. Posteriormente, esses materiais biológicos foram descongelados e usados para avaliação dos marcadores biológicos, foi avaliado os níveis de interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10) e do fator de necrose tumoral (TNF). Esses ensaios foram realizados utilizando kits, sendo todos os anticorpos e reagentes reconstituídos e aliquotados de acordo com as orientações dos fabricantes e as análises foram realizadas como descrito a seguir:

Em resumo, em placas de 96 poços foram adicionados 100 µL de anticorpo monoclonal contra o peptídeo (anticorpo de captura), reconstituído em PBS, sendo essas placas incubadas por 12 horas, a temperatura ambiente. Os anticorpos não adsorvidos pelas placas foram descartados, por inversão e sucessivas lavagens em PBS-Tween (PBS adicionado de 0,05% de Tween20) e as placas foram bloqueadas com 100 µL/poço de uma solução contendo PBS-BSA 1%, durante 1 hora a temperatura ambiente. A seguir, as placas foram novamente lavadas. Foi preparada por diluição seriada uma curva padrão. As amostras foram aplicadas em um volume de 25 µL para cada poço e, a seguir, foi realizada incubação por 2 horas em temperatura ambiente.

Os anticorpos secundários (anticorpo de detecção), após os poços serem devidamente lavados, foram diluídos em PBS-BSA 0,1% e incubados por 2 horas à temperatura ambiente. A placa foi novamente lavada e 100 µL de estreptoavidina ligada à peroxidase (na diluição recomendada pelo protocolo de cada kit) em PBS-BSA 0,1% foram adicionados à placa e a mesma incubada por 20 minutos à temperatura ambiente. O cromógeno escolhido para revelação foi a Tetrametilbenzidina (Color Reagent B - R&D Systems, Minneapolis, USA), 5 mL do cromógeno foi adicionado a 5 mL de peróxido de hidrogênio adquirida pelo mesmo fabricante (Color reagent A - R&D Systems, Minneapolis, USA). 100 µL dessa solução foram adicionados em cada um dos poços e após vinte minutos de incubação em ausência de luz e temperatura ambiente, a reação foi bloqueada adicionando-se 100 µL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 2,5 M por poço.

A leitura da intensidade de coloração foi realizada em leitor de ELISA utilizando-se o comprimento de onda de 450 nm, imediatamente após a adição de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para o bloqueio das reações. A quantificação das interleucinas presentes nas amostras foi

determinada baseada na densidade óptica obtida com a curva padrão dos peptídeos, analisadas pelo software SOFT Max PRO 4.0 (PENITENTE; LEITE; DE PAULA COSTA; SHRESTHA *et al.*, 2015).

## 5.6 Análises Estatísticas

A avaliação da normalidade foi realizada pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados paramétricos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e foram analisados através da análise variância one-way ANOVA seguido pelo pós-teste de Tukey. Dados não paramétricos foram expressos como mediana e intervalo interquartil (25-75%) foram analisados através do teste de Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn. Diferenças estatísticas foram consideradas significativas quando o valor de p foi menor que 0,05. Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 8.4.2 para Windows 11, GraphPad Software (San Diego, CA, USA).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.6 Bioquímica do sangue

A análise de função renal foi realizada nas amostras de plasma dos animais expostos aos diferentes anestésicos e grupos controles. Para a análise sérica de ureia, não houve diferença nos valores desse parâmetro entre os diferentes grupos experimentais (Tabela 1). Para a análise de ácido úrico sérico, houve um aumento dos níveis desse marcador no grupo exposto ao isoflurano por 3 horas (ISO3h) ( $p = 0,0341$ ) quando comparado ao grupo controle. Para os demais anestésicos, não houve diferença significativa entre os diferentes grupos. Para a análise da creatinina, também foi observado um aumento nos níveis séricos dos animais expostos ao isoflurano por 3h, quando comparados ao grupo isoflurano 1h (ISO1h) ( $p = 0,0474$ ), 2h (ISO2h) ( $p = 0,0450$ ) e ao grupo controle ( $p = 0,0189$ ). Os demais grupos não demonstraram diferenças significativas (Tabela 1).

**Tabela 1 - Função renal dos animais expostos aos anestésicos inalatórios em diferentes períodos.**

<b>Isoflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>ISO1h</b>	<b>ISO2h</b>	<b>ISO3h</b>
<b>Ureia (mg/dL)</b>	70,51 ± 3,57	65,84 ± 9,06	67,10 ± 5,77	75,57 ± 15,53
<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>	0,87 ± 0,26	0,97 ± 0,41	1,46 ± 0,47	2,09 ± 1,39 <sup>a</sup>
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0,22 ± 0,13	0,30 ± 0,21	0,27 ± 0,16	0,79 ± 0,59 <sup>abc</sup>
<b>Sevoflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>SEV1h</b>	<b>SEV2h</b>	<b>SEV3h</b>
<b>Ureia (mg/dL)</b>	65,06 ± 6,17	58,16 ± 4,70	55,00 ± 6,21	57,33 ± 9,16
<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>	0,93 ± 0,48	0,83 ± 0,15	0,70 ± 0,22	0,65 ± 0,22
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0,72 ± 0,37	0,91 ± 0,51	0,69 ± 0,35	0,77 ± 0,35
<b>Desflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>DES1h</b>	<b>DES2h</b>	<b>DES3h</b>
<b>Ureia (mg/dL)</b>	50,75 ± 12,79	59,52 ± 6,70	56,82 ± 4,31	58,70 ± 2,82
<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>	2,10 (0,43-5,65)	1,35 (0,68-5,27)	6,20 (1,63-6,83)	0,85 (0,68-2,13)
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0,88 ± 0,44	0,47 ± 0,26	0,79 ± 0,36	1,03 ± 0,39

GC: grupo controle; ISO: grupo isoflurano; SEV; grupo sevoflurano; DES: grupo desflurano. Letra (a) representa uma diferença significativa comparado ao GC. Letra (b) representa diferença significativa comparado ao grupo 1 hora. Letra (c) representa diferença significativa comparado ao grupo 2 horas. Para os resultados paramétricos, os dados foram expressos como média ± desvio padrão da média e foram analisados por one-way ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey. O resultado de ácido úrico do anestésico desflurano foi expresso como mediana e intervalo interquartil (25-75%) e foi analisado por Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's, n = (5 - 7) animais por grupo (p < 0,05).

Os anestésicos inalatórios foram associados a disfunção e lesão renal por muito tempo devido à formação de compostos inorgânicos com o íon fluoreto após a metabolização (MOPPETT; MEDICINE, 2015). Entretanto, com o surgimento de novos anestésicos inalatórios como o isoflurano, sevoflurano e desflurano que mostram maior segurança e menor formação de metabólitos, essa associação reduziu significativamente (MOPPETT; MEDICINE, 2015; REICHLE; CONZEN, 2003; TORRI, 2010).

Dentre os atuais anestésicos inalatórios, o sevoflurano ainda pode ter uma associação com nefrotoxicidade, devido a maior taxa de metabolização e maior produção de fluoreto inorgânico (REICHLE; CONZEN, 2003), estudos já associaram os anestésicos inalatórios como o sevoflurano no agravamento da função renal mesmo em modelos de lesão (FRANZEN; SEMENAS; TAAVO; MARTENSSON *et al.*, 2022).

Em nosso estudo, os resultados de função renal demonstraram que os níveis de ureia não diferiram entre os grupos experimentais para os diferentes anestésicos inalatórios. A maioria dos estudos que investigaram os efeitos dos anestésicos inalatórios sobre a função renal ou mesmo lesão renal aguda, destacam que os efeitos protetores desses agentes halogenados em atenuar a necrose tubular renal, efeitos nefrotóxicos de leucócitos pró-inflamatórios e geração de citocinas pró-inflamatórias, sobretudo em modelos de isquemia/reperfusão (FUKAZAWA; LEE, 2014; NISHIYAMA, 2013). Os níveis de ureia observados no presente estudo sugerem que por esses agentes anestésicos possuírem menores coeficientes de solubilidade no sangue, sua eliminação é mais rápida ao final da anestesia, o que pode diminuir a quantidade de anestésico disponível para metabolização e geração de espécies nefrotóxicas que possam impactar a função renal (REICHLE; CONZEN, 2003). A creatinina é o produto do metabolismo da creatina e do fosfato de creatina, que são produzidos pelo fígado, a principal fonte de creatinina em humanos é o músculo esquelético e pode estar ligada a função renal, uma vez que é excretada pela urina (KASHANI; ROSNER; OSTERMANN, 2020). Quando a função renal está prejudicada, a capacidade de filtrar o sangue é afetada podendo aumentar os níveis de creatinina presente no sangue (DIAGO; SEÑARIS, 2020). Nesse contexto, esses resultados são fundamentais para elucidar o perfil desses anestésicos inalatórios sobre a função renal.

Em nosso estudo, os níveis de ácido úrico e creatinina foram maiores nos animais expostos ao isoflurano por 3 horas comparado ao controle. Entre os anestésicos inalatórios, o isoflurano possui maior solubilidade sanguínea o que resulta em maior concentração e tempo para esse anestésico promover sedação (STEFFEY; MAMA; BROSANAN; LUMB *et al.*, 2015). Isso permite que esse agente possa ter uma maior metabolização e conseqüente geração de metabólitos como o ácido úrico e espécies reativas, e mais tempo para comprometer a filtração sanguínea o que gera um aumento na concentração de creatinina no sangue. Nossos resultados sugerem que o anestésico isoflurano pode ser um indutor da produção de ácido úrico via xantina oxidase (HISATOME; LI; MIAKE; TAUFIQ *et al.*, 2021).

### **6.7 Marcadores do desequilíbrio redox**

A análise dos marcadores de desequilíbrio redox no parênquima renal através da atividade das enzimas do sistema antioxidante e marcadores de dano oxidativo, foi realizada nas amostras do homogeneizado renal dos animais expostos aos diferentes anestésicos e grupos controles. Para a análise da atividade da superóxido dismutase (SOD) foi observado o aumento significativo nos animais expostos ao sevoflurano por 1h (SEV 1h) ( $p = 0,0325$ ), e ao desflurano por 3h (DES 3h) ( $p = 0,0483$ ), quando comparados aos grupos controles respectivamente (Tabela 2). Para a atividade da Catalase (CAT) foi observado um aumento dos níveis da atividade dessa enzima antioxidante nos grupos expostos ao desflurano em todos os tempos de exposição (DES1h, DES2h e DES3h) ( $p < 0,05$ ), quando comparados ao grupo controle. Para os demais anestésicos, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais.

Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), um biomarcador da peroxidação lipídica, apresentou um aumento nos animais expostos ao sevoflurano por 2h e 3h (SEV 2h e SEV 3h) quando comparados ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), enquanto os níveis proteínas totais e proteína carbonilada não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais para os diferentes anestésicos (Tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros de estresse oxidativo no parênquima renal pela avaliação da atividade das enzimas do sistema antioxidante.

<b>Isoflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>ISO1h</b>	<b>ISO2h</b>	<b>ISO3h</b>
<b>SOD (U/mg pnt)</b>	4,22 ± 1,28	5,21 ± 1,27	4,44 ± 1,01	4,20 ± 1,22
<b>CAT (U/mg ptn)</b>	14,94 (13,84-22,98)	16,63 (4,89-27,65)	18,41 (11,45-23,46)	16,21 (13,72-23,06)
<b>Proteínas Totais (mg/ml)</b>	3,48 ± 1,48	3,49 ± 1,16	4,32 ± 1,75	4,07 ± 2,3
<b>TBARS (nmol/mg ptn)</b>	1,46 ± 0,84	1,52 ± 0,45	1,58 ± 0,74	1,96 ± 1,22
<b>Proteína Carbonilada (nmol/mg)</b>	29,69 ± 10,86	34,66 ± 11,85	32,55 ± 7,91	34,39 ± 18,22
<b>Sevoflurano</b>				
	<b>CG</b>	<b>SEV1h</b>	<b>SEV2h</b>	<b>SEV3h</b>
<b>SOD (U/mg pnt)</b>	3,14 ± 0,32	3,94 ± 0,93 <sup>a</sup>	3,28 ± 0,34	3,46 ± 0,71
<b>CAT (U/mg ptn)</b>	13,45 ± 8,72	18,00 ± 7,53	21,66 ± 9,49	22,58 ± 11,67
<b>Proteínas Totais (mg/ml)</b>	4,97 ± 0,73	4,54 ± 1,02	4,98 ± 0,50	4,99 ± 1,05
<b>TBARS (nmol/mg ptn)</b>	0,78 ± 0,10	0,90 ± 0,14	1,12 ± 0,27 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,18 <sup>a</sup>
<b>Proteína Carbonilada (nmol/mg)</b>	21,28 ± 6,04	27,09 ± 9,75	21,33 ± 4,13	24,16 ± 7,56
<b>Desflurano</b>				
	<b>CG</b>	<b>DES1h</b>	<b>DES2h</b>	<b>DES3h</b>
<b>SOD (U/mg pnt)</b>	3,04 ± 0,42	3,74 ± 0,94	3,49 ± 0,60	3,89 ± 0,75 <sup>a</sup>
<b>CAT (U/mg ptn)</b>	9,85 ± 2,78	20,65 ± 7,35 <sup>a</sup>	18,44 ± 6,72 <sup>a</sup>	21,30 ± 9,15 <sup>a</sup>
<b>Proteínas Totais (mg/ml)</b>	5,08 ± 1,01	5,26 ± 1,34	4,97 ± 1,18	4,62 ± 1,10

<b>TBARS (nmol/mg ptn)</b>	0,92 ± 0,19	1,21 ± 0,52	0,92 ± 0,19	1,00 ± 0,15
<b>Proteína Carbonilada (nmol/mg)</b>	22,13 ± 3,85	23,36 ± 5,17	25,41 ± 4,88	22,92 ± 6,53

---

GC: grupo controle; ISO: grupo isoflurano; SEV; grupo sevoflurano; DES: grupo desflurano. SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. L etra (a) representa uma diferença significativa comparado ao GC. Para os resultados paramétricos, os dados foram expressos como média ± desvio padrão da média e foram analisados por one-way ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey. N = (9 - 10) animais por grupo (p < 0,05).

O estresse oxidativo é definido por um desequilíbrio entre a produção de radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS), e as defesas antioxidantes (LEE; SONG; YEUM, 2015; LUSHCHAK, 2014; RAUF; KHALIL; AWADALLAH; KHAN *et al.*, 2024). As ROS e RNS muitas vezes são essenciais para o metabolismo, entretanto, a superprodução dessas espécies pode gerar um desequilíbrio redox levando ao estresse oxidativo e pode resultar em disfunção celular (LEE; SONG; YEUM, 2015; LUSHCHAK, 2014; MAS-BARGUES; GARCIA-DOMINGUEZ; BORRAS, 2022). Em nosso estudo, mensuramos a produção das espécies reativas de oxigênio desses anestésicos através da avaliação dos níveis da atividade das enzimas antioxidantes, SOD e CAT, e através da avaliação do dano, como a peroxidação lipídica (ensaio TBARS) e proteínas carboniladas.

Os anestésicos inalatórios têm sido associados também ao estresse oxidativo por induzirem a produção de espécies reativas de oxigênio por diferentes mecanismos (KUNDUMANI-SRIDHARAN; SUBRAMANI; RAGHAVAN; MAITI *et al.*, 2019; MACHADO-JUNIOR; DE SOUZA; CASTRO; PERUCCI *et al.*, 2022; STOLLINGS; JIA; TANG; DOU *et al.*, 2016). Alguns estudos também descrevem que o estresse oxidativo induzido pelos anestésicos inalatórios podem acontecer em órgão metabolizadores como rins e fígado (BEZERRA; DO VALE; MACEDO BDE; REZENDE *et al.*, 2010; DIKMEN; KURTIPEK; BAYDAR; ÖZGEN *et al.*, 2001; TURKAN; AYDIN; SAYAL; EKEN *et al.*, 2011).

Alguns estudos relatam um efeito protetor desses anestésicos, principalmente o isoflurano, contra o estresse oxidativo em estudos *in vitro* e *in vivo* (BEDIRLI; DEMIRTAS; AKKAYA; SALMAN *et al.*, 2012; SHEN; BHATT; XU; MENG *et al.*, 2014;

WANG; WANG; LI; LI *et al.*, 2014). O estudo *in vitro* de Wang *et al* (2014), envolvendo o Componente fúngico zimosan em células de Kupffer, mostrou que a subanestesia com o isoflurano é capaz de inibir a p38 e vias MAPK/NF-κB. O estudo realizado por Bedirli *et al* (2012) com o pré condicionamento com isoflurano e sevoflurano, em um modelo de inflamação pulmonar e sepse, demonstrou que esses anestésicos foram capazes de atenuar o estresse oxidativo, resposta inflamatória e peroxidação lipídica. Em nosso estudo, os animais expostos ao isoflurano não apresentaram nenhuma alteração nos marcadores do desequilíbrio redox, quando comparados ao grupo controle.

Em contrapartida aos estudos que demonstram um efeito protetor do sevoflurano (BEDIRLI; DEMIRTAS; AKKAYA; SALMAN *et al.*, 2012; DAL MOLIN; KRUEL; DE FRAGA; ALBOIM *et al.*, 2014; TURKAN; AYDIN; SAYAL; EKEN *et al.*, 2011), em nosso estudo, foi observado um aumento da atividade da SOD nos animais expostos ao sevoflurano, o que indica que exposição a esse anestésico ativou o sistema de defesa antioxidante através da elevação da atividade da SOD, além disso foi observado o aumento dos níveis do TBARS, um biomarcador da peroxidação lipídica, nos animais expostos a esse anestésico por 2h e 3h, o que indica um dano oxidativo causado por esse anestésico. O estudo desenvolvido por Dal Molin *et al* (2014) demonstrou que sevoflurano, em transplante de fígado em ratos, apresenta efeitos antioxidantes superiores ao isoflurano. No estudo realizado por Turkan *et al* (2011) o estresse oxidativo foi avaliado no tecido renal de ratos expostos ao sevoflurano por 4 horas a uma concentração de 8%, concentração maior que a CAM (concentração alveolar mínima) desse anestésico (2%), além dos rins, também foi avaliado o tecido pulmonar, fígado e cérebro. Nossos resultados estão em acordo com os achados do estudo realizado por Dikmen *et al.* (2001), que mostrou a capacidade do sevoflurano em aumentar a peroxidação lipídica sem alterar os níveis da defesa antioxidante no fígado de animais em curto período de exposição.

O estudo *in vivo* de Lee *et al* (2004) envolvendo os três anestésicos (sevoflurano, isoflurano e desflurano), em um modelo de isquemia-reperfusão renal, demonstrou que o desflurano teve o menor efeito protetor devido à sua baixa solubilidade lipídica. Em nosso estudo, a exposição ao desflurano por 3h aumentou os níveis de SOD e CAT, e a exposição a 1h e 2h aumentou os níveis de CAT, evidenciando ativação do sistema antioxidante para proteção contra as espécies

reativas. Apesar da segurança dos atuais anestésicos utilizados na prática clínica, o desflurano é o anestésico que possui menor metabolização entre os 3 anestésicos, e demonstrou ser capaz de promover desequilíbrio redox em um modelo com ausência de lesão, sendo assim, através desses resultados hipotetizamos que esses anestésicos são capazes de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), promovendo o desequilíbrio redox nos rins.

## 6.8 Citocinas

Através da utilização do ensaio imunoenzimático, realizado no sobrenadantes advindos da homogeneização de fragmentos do tecido renal, foram analisados os níveis da interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10) e do fator de necrose tumoral (TNF). Os resultados mostraram que houve aumentos nos níveis de IL-6 no homogeneizado renal dos animais dos grupos expostos ao isoflurano em todos os tempos de exposição (ISO1h, ISO2h e ISO3h), quando comparado ao GC ( $p < 0,05$ ), enquanto os níveis de IL-10 diminuíram nos mesmos grupos quando comparados ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Nos animais do grupo exposto ao sevoflurano por 2h e 3 h foi observado uma diminuição dos níveis de IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ), quando comparados ao grupo controle. Para o anestésico desflurano, houve um aumento nos níveis de IL-6 nos animais expostos por 2h (DES 2H), comparados ao grupo controle ( $p = 0,0112$ ) e ao grupo desflurano 1h (DES1h) ( $p < 0,05$ ), também foi observado um aumento nos níveis de TNF- $\alpha$  nos animais expostos ao desflurano por 2h e 3h (DES2h, DES3h) ( $p < 0,05$ ), quando comparados ao grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3 - Mediadores inflamatórios no parênquima renal.

<b>Isoflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>ISO1h</b>	<b>ISO2h</b>	<b>ISO3h</b>
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	638,5 ± 108,1	1061 ± 222,7 <sup>a</sup>	1070 ± 207,7 <sup>a</sup>	976,8 ± 196,1 <sup>a</sup>
<b>IL-10 (pg/mL)</b>	683,2 ± 80,43	510,8 ± 60,85 <sup>a</sup>	509,2 ± 80,67 <sup>a</sup>	514,8 ± 83,09 <sup>a</sup>
<b>TNF (pg/mL)</b>	709,2 ± 275,1	750,2 ± 85,03	837,2 ± 187,3	745,3 ± 124,0
<b>Sevoflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>SEV1h</b>	<b>SEV2h</b>	<b>SEV3h</b>
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	1540 ± 208,9	1447 ± 321,3	1163 ± 217,0 <sup>a</sup>	989,7 ± 243,2 <sup>a,b</sup>
<b>IL-10 (pg/mL)</b>	838,0 ± 86,04	756,5 ± 187,2	605,4 ± 141,5 <sup>a</sup>	550,0 ± 70,92 <sup>a,b</sup>
<b>TNF (pg/mL)</b>	952,5 ± 162,6	908,4 ± 176,7	747,2 ± 103,7 <sup>a</sup>	705,0 ± 43,17 <sup>a,b</sup>
<b>Desflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>DES1h</b>	<b>DES2h</b>	<b>DES3h</b>
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	923,5 ± 227,3	902,9 ± 143,9	1321 ± 222,4 <sup>a,b</sup>	1152 ± 258,7
<b>IL-10 (pg/mL)</b>	512,0 ± 45,44	398,8 ± 53,61	504,1 ± 112,8	517,5 ± 130,9
<b>TNF (pg/mL)</b>	677,3 ± 88,53	747,1 ± 144,9	920,7 ± 170,2 <sup>a</sup>	914,0 ± 204,0 <sup>a</sup>

GC: grupo controle; ISO: grupo isoflurano; SEV; grupo sevoflurano; DES: grupo desflurano. IL: interleucina; TNF: fator de necrose tumoral alfa. Letra (a) representa uma diferença significativa comparado ao GC. Letra (b) representa diferença significativa comparado ao grupo 1 hora. Para os resultados paramétricos, os dados foram expressos como média ± desvio padrão da média e foram analisados por one-way ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey. N = (7 - 8) animais por grupo, (p < 0,05).

Estudo descrevem que os anestésicos inalatórios podem desempenhar dualidade de efeitos sobre o sistema imune, podendo apresentar efeitos imunossupressórios ou imunoativadores (CRUZ; ROCCO; PELOSI, 2017; STOLLINGS; JIA; TANG; DOU *et al.*, 2016). Em nosso estudo, o grupo isoflurano apresentou um aumento nos níveis de IL-6, com a diminuição dos níveis de IL-10. A

IL-6 é uma citocina com perfil inflamatório expressa na inflamação de fase aguda, essa interleucina promove maturação e ativação de neutrófilos, maturação de macrófagos e diferenciação/manutenção de linfócitos-T citotóxicos e células *natural killer*, sendo secretada por muitos tipos celulares como macrófagos, monócitos e eosinófilos (DE OLIVEIRA; SAKATA; ISSY; GEROLA *et al.*, 2011). Por outro lado, a IL-10 é uma citocina com o perfil anti-inflamatório, sua expressão indica uma modulação do processo inflamatório, uma vez que sua expressão inibe as citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6, através da estimulação da produção endógena de citocinas anti-inflamatórias (DE OLIVEIRA; SAKATA; ISSY; GEROLA *et al.*, 2011). Em situações de inflamação aguda, a alta concentração de IL-6 pode dominar sobre a IL-10, diminuindo sua expressão ou ação através da regulação negativa (THOMAS; CHEN; LEUKINOVA; VAN WAES *et al.*, 2004). Sendo assim, o nosso resultado indica que o isoflurano induziu um perfil inflamatório, com o aumento da expressão de IL-6 e supressão de IL-10.

Estudos anteriores apontam o sevoflurano como uma agente imunossupressor (CHO; YOON; HONG; LEE *et al.*, 2009; KONG; ZHU; WANG; HE *et al.*, 2010; MITSUHATA; SHIMIZU; YOKOYAMA, 1995). Em um estudo de transplante de fígado em ratos, o sevoflurano além de diminuir a infiltração de neutrófilos, também diminuiu os níveis plasmáticos de fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e IL-6 (KONG; ZHU; WANG; HE *et al.*, 2010). Em outro estudo envolvendo pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, o sevoflurano diminuiu a liberação das citocinas IL-6, IL-8 e IL-10 (CHO; YOON; HONG; LEE *et al.*, 2009). Um estudo *in vitro* demonstrou que o sevoflurano diminuiu a liberação de TNF- $\alpha$ , e outras citocinas (MITSUHATA; SHIMIZU; YOKOYAMA, 1995). Em nosso estudo, o sevoflurano diminuiu os níveis de IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$  nos animais expostos comparados aos respectivos controles. Nesse contexto, os resultados observados podem sugerir uma imunossupressão desempenhada pelo sevoflurano ou mesmo a ausência da produção do metabólito trifluoroacetato que é capaz de induzir respostas inflamatórias, entretanto novos estudos devem ser conduzidos para maior compreensão dos mecanismos envolvidos (LORENTZ; HOBAIKA, 2011).

O desflurano, assim como o isoflurano, produz trifluoroacetato que desencadeia uma resposta imune pró-inflamatória (LORENTZ; HOBAIKA, 2011), em nosso estudo o desflurano provocou o aumento da expressão de IL-6 em 2h de

exposição, e TNF- $\alpha$  em 2h e 3h de exposição, apresentando um perfil pró-inflamatório. O Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), também é uma das primeiras citocinas pró-inflamatórias envolvidas durante a resposta inflamatória, é produzida principalmente por monócitos, macrófagos e linfócitos-T (DE OLIVEIRA; SAKATA; ISSY; GEROLA *et al.*, 2011), e pode ser produzida em resposta ao estresse oxidativo (ARRUDA; BRAZ; NOGUEIRA; SOUZA *et al.*, 2019). O desflurano possui a maior CAM (6%) entre os anestésicos, o que resulta em maiores concentrações desse agente para a indução da anestesia, além disso, essa propriedade foi correlacionada às espécies reativas de oxigênio em outros estudos, como justificativa para a indução do dano causado pelos anestésicos polifluorados (ARRUDA; BRAZ; NOGUEIRA; SOUZA *et al.*, 2019; JAŁOSZYŃSKI; KUJAWSKI; WAŚOWICZ; SZULC *et al.*, 1999).

### 6.9 Aspectos histopatológicos do parênquima renal

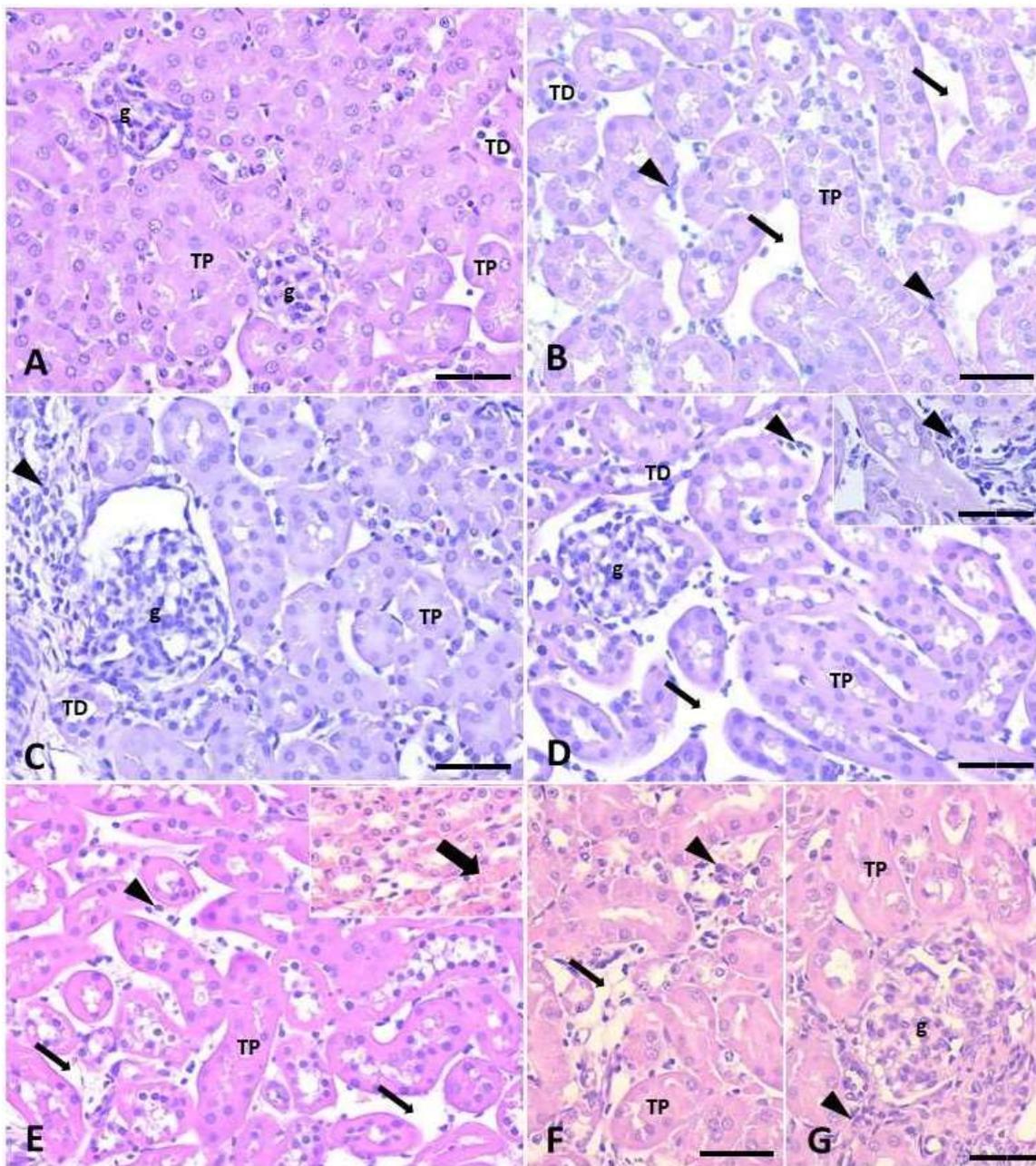
As lesões encontradas no parênquima renal dos grupos estudados estão representadas na tabela 4 e nas figuras 6, 7 e 8. A tabela 4 resume a frequência de lesões através de análise semiquantitativa. Como esperado, o parênquima renal dos grupos controles para os três anestésicos (GC) apresentou características morfológicas preservadas quase em sua totalidade (Figuras 6A, 7A, 8A, tabela 4).

A exposição aos três anestésicos resultou em alterações do parênquima renal. As análises morfológicas do tecido evidenciaram injúrias, tais como: edema intersticial, congestão e presença de focos de inflamação (reação inflamatória) (Figuras 6, 7, 8, tabela 4). O edema intersticial se caracteriza por acúmulo anormal de líquido no espaço intersticial. A presença de edema foi evidente nos grupos expostos por 1, 2 e 3 horas aos anestésicos isoflurano e desflurano em relação aos seus grupos controles (ISO1h,  $p = 0,035$ ; ISO2h,  $p = 0,037$ ; ISO3h,  $p = 0,033$ ; DES1h,  $p = 0,039$ ; DES2h,  $p = 0,001$ ; DES3h,  $p = 0,007$ ) (Figuras 6B-F, 8B-F, tabela 3). Entretanto, os grupos ISO1h, ISO2h e ISO3h não apresentaram diferenças quando comparados entre si. O mesmo aconteceu para os grupos DES1h, DES2h e DES3h, que foram semelhantes entre si em relação à presença de edema intersticial. Os animais expostos ao sevoflurano, nos três tempos de exposição, não apresentaram diferenças significativas em relação ao edema intersticial quando comparados aos seus controles ou entre si (Figura 7, tabela 4).

A congestão, processo passivo resultante de obstrução venosa local e caracterizado pelo aumento do volume sanguíneo com conseqüente dilatação vascular, foi observada no parênquima renal de alguns animais expostos por 1, 2 e 3 horas ao isoflurano, com score variando entre 0 - 2,25, e ao desflurano, com score variando entre 0 - 1, mas não nos expostos ao sevoflurano, apesar de estarem presentes nesses animais, não houve diferença significativa em relação à congestão quando comparados com os seus respectivos controles ou entre si (Figuras 6E, 8D, tabela 4).

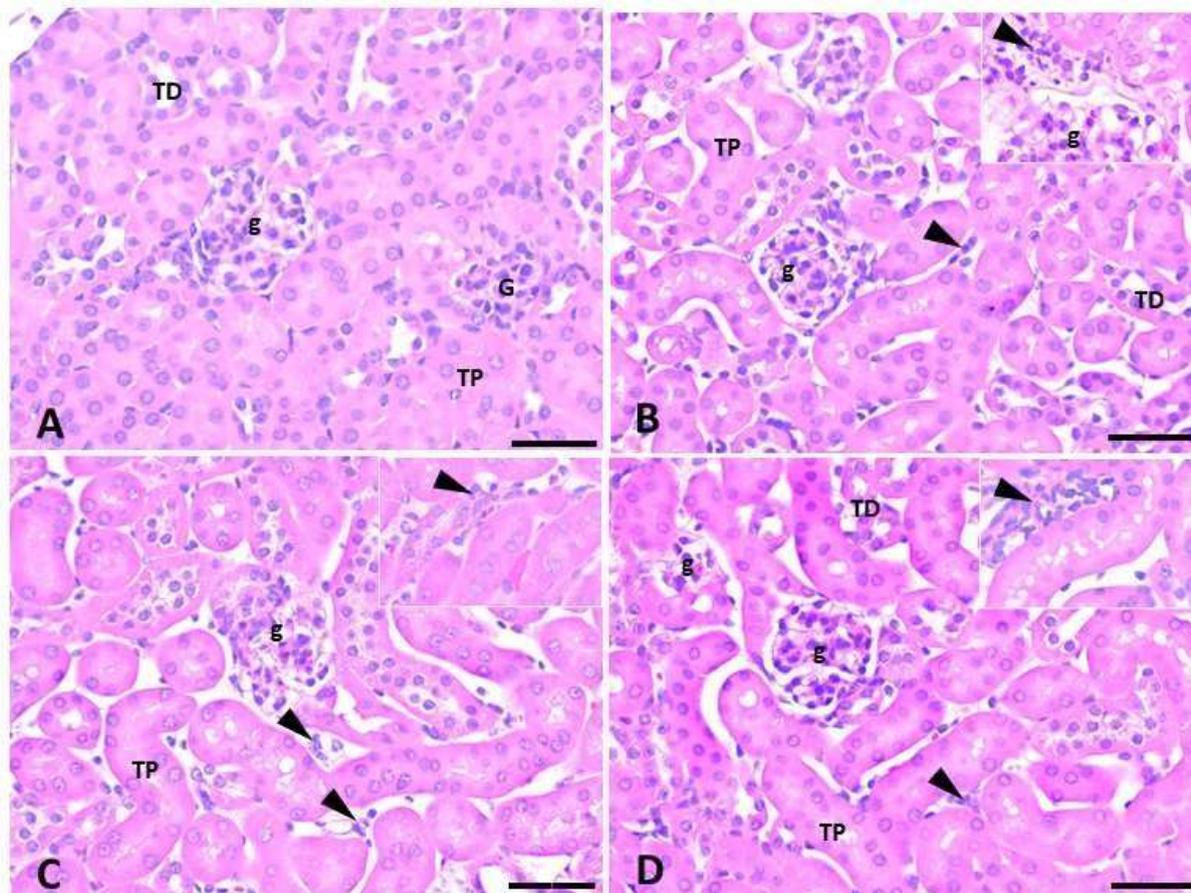
Outra alteração detectada no parênquima renal de todos os grupos expostos aos três anestésicos foi a presença de reação inflamatória, em sua maioria em pequenos focos de inflamação, havendo alguns focos maiores (Figuras 6, 7, 8, tabela 4). Essa lesão foi mais intensa em ISO1h ( $p = 0,017$ ), ISO2h ( $p < 0,001$ ) e ISO3h ( $p = 0,002$ ), quando comparados ao GC (Figuras 6 B-G, tabela 4). A reação inflamatória também foi mais intensa em SEV1h ( $p < 0,001$ ), SEV2h ( $p < 0,001$ ) e SEV3h ( $p < 0,001$ ) quando comparados ao GC (Figuras 7 B-D, tabela 4). Em relação ao desflurano, houve mais focos de inflamação em DES1h ( $p = 0,022$ ), DES2h ( $p = 0,022$ ) e DES3h ( $p < 0,001$ ) em relação ao GC (Figuras 8 B-G, tabela 4). Não houve diferença significativa quando comparados os diferentes períodos de exposição entre si, para os três anestésicos. Não houve reação inflamatória nos grupos controles, esses grupos apresentaram apenas células inflamatórias residentes (Figuras 6A, 7A, 8A, tabela 4).

**Figura 6: Alterações histopatológicas dos rins de camundongos C57BL/6 expostos ao isoflurano.**



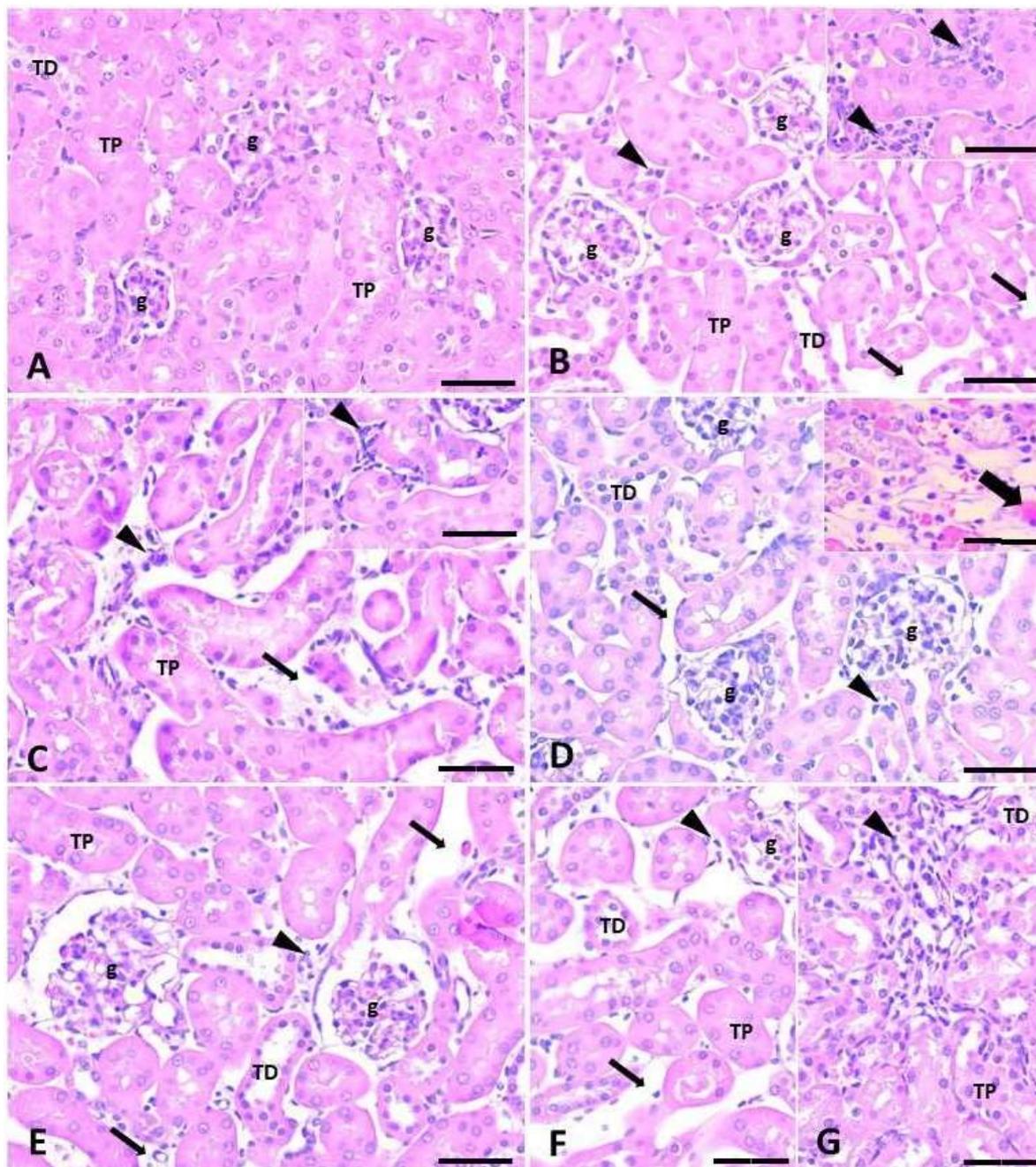
**Grupo Controle (GC) (A), grupo ISO1h (B e C), grupo ISO2h (D), grupo ISO3h (E, F e G).** Túbulos proximais (TP), Túbulos distais (TD), glomérulo (g). **Coloração:** Hematoxilina-eosina. **Barra:** 20  $\mu\text{m}$ . Ampliação de 400x. **A)** Rim com parênquima bem preservado. **B)** Parênquima renal do grupo ISO1h com edema intersticial (setas finas em B) provocando o aparecimento de espaços entre os túbulos renais, que contêm células inflamatórias em pequenos infiltrados (cabeças de seta em B). Observe infiltrado inflamatório relativamente intenso em C (cabeça de seta). **D)** Observe no grupo ISO2h presença de edema intersticial (seta fina) contendo células inflamatórias em pequenos infiltrados (cabeça de seta) ou em infiltrados maiores (cabeça de seta no inserto). **E, F e G)** No grupo ISO3h, observe edema intersticial (setas finas em E e F), infiltrados inflamatórios (cabeças de setas em E, F e G). Alguns animais nos três períodos de exposição ao isoflurano apresentaram congestão, representada no inserto em E.

**Figura 7: Alterações histopatológicas dos rins de camundongos C57BL/6 expostos ao sevoflurano.**



**Grupo Controle (GC) (A), grupo SEV1h (B), grupo SEV2h (C), grupo SEV3h (D).** Túbulos proximais (TP), Túbulos distais (TD), glomérulo (g). **Coloração:** Hematoxilina-eosina. **Barra:** 20  $\mu$ m. Ampliação de 400x. **A)** Rim do grupo controle com parênquima bem preservado. **B, C e D)** Parênquima renal dos grupos SEV1h (B), SEV2h (C) e SEV3h (D) com características semelhantes àquelas dos grupos controles, exceto pela presença de focos inflamatórios menores ou maiores (cabeças de seta em B, C, D e insertos).

**Figura 8: Alterações histopatológicas dos rins de camundongos C57BL/6 expostos ao desflurano.**



**Grupo Controle (GC) (A), grupo DES1h (B), grupo DES2h (C e D), grupo DES3h (E, F e G).** Túbulos proximais (TP), Túbulos distais (TD), glomérulo (g). **Coloração:** Hematoxilina-eosina. **Barra:** 20  $\mu$ m. Ampliação de 400x. **A)** Rim com parênquima bem preservado. **B)** Parênquima renal do grupo DES1h com edema intersticial (setas finas) provocando o aparecimento de espaços entre os túbulos renais, que contêm células inflamatórias em pequenos infiltrados (cabeças de seta). Observe infiltrado inflamatório relativamente intenso no inserto (cabeças de seta). **D)** Observe no grupo ISO2h presença de edema intersticial (seta fina) contendo células inflamatórias em pequenos infiltrados (cabeça de seta) ou em infiltrados maiores (cabeça de seta no inserto). **E, F e G)** No grupo ISO3h, observe edema intersticial (setas finas em E e F), infiltrados inflamatórios (cabeças de setas em E, F e G). Alguns animais nos três períodos de exposição ao desflurano apresentaram congestão, representada no inserto em D (seta espessa).

**Tabela 4. Valores de score (percentil 25%-percentil 75%) das principais alterações histológicas encontradas nos rins dos animais dos grupos experimentais.**

Lesões	Isoflurano			
	GC	ISO1h	ISO2h	ISO3h
Edema intersticial	0 (0-0,25)	1 (0,75-2) <sup>a</sup>	1,5 (0-2) <sup>a</sup>	1 (1-2) <sup>a</sup>
Congestão intertubular	0 (0-0)	0 (0-2,25)	0,5 (0-2)	0 (0-2)
Reação inflamatória	0 (0-0)	1 (0,75-1) <sup>a</sup>	1 (1-2) <sup>a</sup>	1 (0,75-2) <sup>a</sup>
Sevoflurano				
	GC	SEV1h	SEV2h	SEV3h
Edema intersticial	0 (0-0,25)	0 (0-1)	1 (0-1,25)	1 (0-1,25)
Congestão intertubular	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
Reação inflamatória	0 (0-0,25)	1 (1-1) <sup>a</sup>	1 (1-1) <sup>a</sup>	1 (1-1) <sup>a</sup>
Desflurano				
	GC	DES1h	DES2h	DES3h
Edema intersticial	0 (0-0)	1 (1-1,25) <sup>a</sup>	2 (0,75-2) <sup>a</sup>	2 (0-2) <sup>a</sup>
Congestão intertubular	0 (0-0)	0 (0-0,5)	0 (0-0,25)	0 (0-1)
Reação inflamatória	0 (0-0)	1 (0-1) <sup>a</sup>	1 (0-1) <sup>a</sup>	1 (1-1,25) <sup>a</sup>

GC: grupo controle; ISO: grupo isoflurano; SEV; grupo sevoflurano; DES: grupo desflurano. (a) representa diferença significativa quando comparado ao GC; (b) representa diferença significativa quando comparado aos grupos anestésicos por 1 h; (c) representa diferença significativa quando comparado aos grupos expostos aos anestésicos por 2 h. (d) representa diferença significativa quando comparado aos grupos expostos aos anestésicos por 3 h. Os dados foram expressos como mediana e intervalo interquartil (25-75%) e foram analisados por Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's ( $p < 0,05$ ).  $n = 10$  animais por grupo.

A maioria dos estudos envolvendo a exposição aos anestésicos inalatórios em modelos de lesão renal, destacam seus efeitos protetores em relação a diminuição de mediadores pró-inflamatórios, apoptóticos e oxidativos (FUKAZAWA; LEE, 2014; LEE; OTA-SETLIK; FU; NASR *et al.*, 2004; ZHENG; LU; HUANG, 2020). Além disso, os anestésicos inalatórios são capazes de promover uma regulação de vias inflamatórias como a do NF- $\kappa$ B e da imunidade adaptativa levando a produção de mediadores anti-inflamatórios em modelos de lesão renal aguda (FUKAZAWA; LEE, 2014). Entretanto, o perfil dos anestésicos inalatórios parece diferir de acordo com o local da sua ação,

em um ambiente com lesão ou sem lesão, como descrito anteriormente (STOLLINGS; JIA; TANG; DOU *et al.*, 2016). Em nosso estudo, os resultados sugerem que os anestésicos inalatórios são capazes de promover alterações morfológicas evidentes, mesmo que a princípio em grau moderado. Evidenciando de maneira inédita que em modelos com ausência de lesão renal, esses anestésicos halogenados são capazes de desempenhar um efeito deletério, como relatado no estudo envolvendo o pulmão (MACHADO-JUNIOR; DE SOUZA; CASTRO; PERUCCI *et al.*, 2022).

#### **6.10 Análises morfométricas do parênquima renal**

A densidade glomerular foi realizada no parênquima renal dos animais na objetiva de 4x, enquanto a área do glomérulo e a cavidade capsular foram analisadas na objetiva de 40x. A análise da contagem de glomérulos não mostrou diferença significativa entre os grupos dos animais expostos aos anestésicos em diferentes períodos. A área do glomérulo e da cavidade capsular diminuíram significativamente ( $p < 0,05$ ) nos animais expostos ao isoflurano por 1h (ISO 1H), quando comparado ao grupo controle, já os demais grupos não demonstraram diferença significativa quando comparados ao grupo controle ou entre si (Tabela 5).

Tabela 5 – Análises morfométricas dos animais expostos aos diferentes anestésicos inalatórios.

<b>Isoflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>ISO1h</b>	<b>ISO2h</b>	<b>ISO3h</b>
<b>Densidade glomerular</b>	32,41 ± 6,76	29,59 ± 8,86	29,78 ± 11,58	33,75 ± 18,70
<b>Área do glomérulo</b>	622,4	481,8	528,4	470,3
<b>Área da cavidade capsular</b>	(533,5 - 656,8)	(429,5 - 485,5) <sup>a</sup>	(506,10 - 560,00)	(450,8 - 565,8)
	236,7	170,3	191,6	185,5
	(224,2 - 322,0)	(165,7 - 192,0) <sup>a</sup>	(182,1 - 220,7)	(171,8 - 190,9)
<b>Sevoflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>SEV1h</b>	<b>SEV2h</b>	<b>SEV3h</b>
<b>Densidade glomerular</b>	32,89 ± 9,66	30,43 ± 11,14	41,87 ± 12,78	36,73 ± 13,05
<b>Área do glomérulo</b>	488,5 ± 50,76	454,3 ± 55,94	457,7 ± 63,56	487,5 ± 57,35
<b>Área da cavidade capsular</b>	160,8 ± 81,77	203,3 ± 30,50	187,3 ± 42,18	181,0 ± 24,66
<b>Desflurano</b>				
	<b>GC</b>	<b>DES1h</b>	<b>DES2h</b>	<b>DES3h</b>
<b>Densidade glomerular</b>	35,00	39,88	45,00	42,67
	(31,36-70,06)	(30,58-54,00)	(28,08-57,42)	(34,00-57,25)
<b>Área do glomérulo</b>	453,4 ± 36,48	420,8 ± 46,14	442,2 ± 41,29	459,8 ± 77,08
<b>Área da cavidade capsular</b>	192,1 ± 26,80	197,1 ± 12,93	179,3 ± 32,32	215,5 ± 45,66

GC: grupo controle; ISO: grupo isoflurano; SEV; grupo sevoflurano; DES: grupo desflurano. Letra (a) representa uma diferença significativa entre os grupos quando comparado ao GC. Para os resultados paramétricos, os dados foram expressos como média ± desvio padrão da média e foram analisados por one-way ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey. Para os resultados paramétricos, os dados foram expressos como mediana e intervalo interquartil (25-75%) e foi analisado por Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn's, n = (9 - 10) animais por grupo (p < 0,05).

A diminuição da área glomerular é associada à perda progressiva da função renal e pode levar à insuficiência renal crônica (ROBBINS, 2010). Em nossos resultados, foi observado uma diminuição na área glomerular com a diminuição da área da cavidade capsular nos animais expostos ao isoflurano por 1h, baseado nos resultados da histopatologia e dos níveis de citocinas, hipotetizamos que a diminuição nesses parâmetros ocorreu em resposta da reação inflamatória presente nesse grupo, como já descrito em outro estudo, que mostrou o aumento da presença de células inflamatórias no rins induzida por esse anestésico (FRITHIOF; SOEHNLEIN; ERIKSSON; FENHAMMAR *et al.*, 2011), entretanto a alteração na área dos glomérulos não foi suficiente para causar alterações na função renal desses animais nesse período de exposição.

## **7 CONCLUSÃO**

Nossos resultados demonstraram que os anestésicos inalatórios isoflurano, sevoflurano e desflurano são capazes de alteraram a homeostase renal em animais sem lesão prévia, promovendo desequilíbrio redox e inflamação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymol**, 105, p. 121-126, 1984.

ALLAOUCHICHE, B.; DEBON, R.; GOUDABLE, J.; CHASSARD, D. *et al.* Oxidative stress status during exposure to propofol, sevoflurane and desflurane. **Anesth Analg**, 93, n. 4, p. 981-985, Oct 2001.

ANTOIGNINI, J. F.; CARSTENS, E. In vivo characterization of clinical anaesthesia and its components. **Br J Anaesth**, 89, n. 1, p. 156-166, Jul 2002.

ARAUJO, C. M.; LUCIO KDE, P.; SILVA, M. E.; ISOLDI, M. C. *et al.* Morus nigra leaf extract improves glycemic response and redox profile in the liver of diabetic rats. **Food Funct**, 6, n. 11, p. 3490-3499, Nov 2015.

ARRAS, M.; AUTENRIED, P.; RETTICH, A.; SPAENI, D. *et al.* Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anesthesia depth. **Comp Med**, 51, n. 5, p. 443-456, Oct 2001.

ARRUDA, N. M.; BRAZ, L. G.; NOGUEIRA, F. R.; SOUZA, K. M. *et al.* Inflammation and DNA damage induction in surgical patients maintained with desflurane anesthesia. **Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen**, 846, p. 403073, Oct 2019.

BASTOS, M. G.; BREGMAN, R.; KIRSZTAJN, G. M. J. R. A. M. B. Chronic kidney diseases: common and harmful, but also preventable and treatable. 56, n. 2, p. 248-253, 2010.

BECK-SCHIMMER, B.; BREITENSTEIN, S.; BONVINI, J. M.; LESURTEL, M. *et al.* Protection of pharmacological postconditioning in liver surgery: results of a prospective randomized controlled trial. **Ann Surg**, 256, n. 5, p. 837-844; discussion 844-835, Nov 2012.

BEDIRLI, N.; DEMIRTAS, C. Y.; AKKAYA, T.; SALMAN, B. *et al.* Volatile anesthetic preconditioning attenuated sepsis induced lung inflammation. **J Surg Res**, 178, n. 1, p. e17-23, Nov 2012.

BEZERRA, F. J.; DO VALE, N. B.; MACEDO BDE, O.; REZENDE, A. A. *et al.* Evaluation of antioxidant parameters in rats treated with sevoflurane. **Rev Bras Anesthesiol**, 60, n. 2, p. 162-169, 193-167, Mar-Apr 2010.

BIRBEN, E.; SAHINER, U. M.; SACKESEN, C.; ERZURUM, S. *et al.* Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organ J**, 5, n. 1, p. 9-19, Jan 2012.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, 52, p. 302-310, 1978.

CAMPAGNA, J. A.; MILLER, K. W.; FORMAN, S. A. Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. **N Engl J Med**, 348, n. 21, p. 2110-2124, May 22 2003.

CARPENTER, R. L.; EGER, E. I., 2nd; JOHNSON, B. H.; UNADKAT, J. D. *et al.* The extent of metabolism of inhaled anesthetics in humans. **Anesthesiology**, 65, n. 2, p. 201-205, Aug 1986.

CHANG, L. W.; DUDLEY, A. W.; LEE, Y. K.; KATZ, J. Ultrastructural changes in the kidney following chronic exposure to low levels of halothane. **Am J Pathol**, 78, n. 2, p. 225-242, Feb 1975.

CHO, E. J.; YOON, J. H.; HONG, S. J.; LEE, S. H. *et al.* The effects of sevoflurane on systemic and pulmonary inflammatory responses after cardiopulmonary bypass. **J Cardiothorac Vasc Anesth**, 23, n. 5, p. 639-645, Oct 2009.

COLUCCI, D.; PUIG, N.; HERNANDEZ, P. J. O. A. Influence of anaesthetic drugs on immune response: from inflammation to immunosuppression. 1, n. 3, p. 21, 2013.

CRUZ, F. F.; ROCCO, P. R.; PELOSI, P. Anti-inflammatory properties of anesthetic agents. **Crit Care**, 21, n. 1, p. 67, Mar 21 2017.

DAL MOLIN, S. Z.; KRUEL, C. R.; DE FRAGA, R. S.; ALBOIM, C. *et al.* Differential protective effects of anaesthesia with sevoflurane or isoflurane: an animal experimental model simulating liver transplantation. **Eur J Anaesthesiol**, 31, n. 12, p. 695-700, Dec 2014.

DE OLIVEIRA, C. M.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M.; GEROLA, L. R. *et al.* Cytokines and pain. **Rev Bras Anesthesiol**, 61, n. 2, p. 255-259, 260-255, 137-242, Mar-Apr 2011.

DIAGO, C. A. A.; SEÑARIS, J. A. A. Should we pay more attention to low creatinine levels? **Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)**, 67, n. 7, p. 486-492, Aug-Sep 2020.

DIKMEN, B.; KURTIPEK, Ö.; BAYDAR, M.; ÖZGEN, G. *et al.* Effect of sevoflurane on enzymatic antioxidant defense system in guinea pig liver. **T Klin J Med Res** 19, 2001.

DUARTE, L. T.; SARAIVA, R. A. [Immobility: essential inhalational anesthetics action.]. **Rev Bras Anesthesiol**, 55, n. 1, p. 100-117, Feb 2005.

EGER II, E. I., 2005, **The pharmacology of inhaled anesthetics**. Elsevier. 89-100.

ENGLERT, J. A.; MACIAS, A. A.; AMADOR-MUNOZ, D.; PINILLA VERA, M. *et al.* Isoflurane Ameliorates Acute Lung Injury by Preserving Epithelial Tight Junction Integrity. **Anesthesiology**, 123, n. 2, p. 377-388, Aug 2015.

FERNANDES, L.; AGULHARI, J. P.; DE SOUZA, A.; BEZERRA, F. S. *et al.* The High Refined Carbohydrate Diet Pro-motes Renal Injury in Mice Exposed to Cigarette Smoke. 6, p. 143, 2019.

FRANZEN, S.; SEMENAS, E.; TAAVO, M.; MARTENSSON, J. *et al.* Renal function during sevoflurane or total intravenous propofol anaesthesia: a single-centre parallel randomised controlled study. **Br J Anaesth**, 128, n. 5, p. 838-848, May 2022.

FRITHIOF, R.; SOEHNLEIN, O.; ERIKSSON, S.; FENHAMMAR, J. *et al.* The effects of isoflurane anesthesia and mechanical ventilation on renal function during endotoxemia. **Acta Anaesthesiol Scand**, 55, n. 4, p. 401-410, Apr 2011.

FUKAZAWA, K.; LEE, H. T. Volatile anesthetics and AKI: risks, mechanisms, and a potential therapeutic window. **J Am Soc Nephrol**, 25, n. 5, p. 884-892, May 2014.

GELMAN, M. L.; LICHTENSTEIN, N. S. Halothane-induced nephrotoxicity. **Urology**, 17, n. 4, p. 323-327, Apr 1981.

GENTZ, B. A.; MALAN, T. P., Jr. Renal toxicity with sevoflurane: a storm in a teacup? **Drugs**, 61, n. 15, p. 2155-2162, 2001.

GHONEIM, A. A.; AZER, M. S.; GHOBRIAL, H. Z.; EL BELTAGY, M. A. Awakening properties of isoflurane, sevoflurane, and desflurane in pediatric patients after craniotomy for supratentorial tumours. **J Neurosurg Anesthesiol**, 27, n. 1, p. 1-6, Jan 2015.

GOMES, F. A. R.; NORONHA, S.; SILVA, S. C. A.; MACHADO-JUNIOR, P. A. *et al.* Ivabradine treatment lowers blood pressure and promotes cardiac and renal protection in spontaneously hypertensive rats. **Life Sci**, 308, p. 120919, Nov 1 2022.

GUPTA, A.; NAGARAJU, S. P.; BHOJARAJA, M. V.; SWAMINATHAN, S. M. *et al.* Hypertension in Chronic Kidney Disease: An Update on Diagnosis and Management. **South Med J**, 116, n. 2, p. 237-244, Feb 2023.

HASHIGUCHI, H.; MOROOKA, H.; MIYOSHI, H.; MATSUMOTO, M. *et al.* Isoflurane protects renal function against ischemia and reperfusion through inhibition of protein kinases, JNK and ERK. **Anesth Analg**, 101, n. 6, p. 1584-1589, Dec 2005.

HISATOME, I.; LI, P.; MIAKE, J.; TAUFIQ, F. *et al.* Uric Acid as a Risk Factor for Chronic Kidney Disease and Cardiovascular Disease - Japanese Guideline on the Management of Asymptomatic Hyperuricemia. **Circ J**, 85, n. 2, p. 130-138, Jan 25 2021.

JAŁOSZYŃSKI, P.; KUJAWSKI, M.; WĄSOWICZ, M.; SZULC, R. *et al.* Genotoxicity of inhalation anesthetics halothane and isoflurane in human lymphocytes studied in vitro using the comet assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology Environmental Mutagenesis**, 439, n. 2, p. 199-206, 1999.

KARABIYIK, L.; SARDAS, S.; POLAT, U.; KOCABA, S. N. *et al.* Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay. **Mutat Res**, 492, n. 1-2, p. 99-107, May 31 2001.

KASHANI, K.; ROSNER, M. H.; OSTERMANN, M. Creatinine: From physiology to clinical application. **Eur J Intern Med**, 72, p. 9-14, Feb 2020.

KHAN, K. S.; HAYES, I.; BUGGY, D. J. Pharmacology of anaesthetic agents II: inhalation anaesthetic agents. **Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain**, 14, n. 3, p. 106-111, 2013.

KILICASLAN, A.; BELVIRANLI, M.; OKUDAN, N.; NURULLAHOGLU ATALIK, E. Single and repeated sevoflurane or desflurane exposure does not impair spatial memory performance of young adult mice. **Fundam Clin Pharmacol**, 27, n. 6, p. 641-649, Dec 2013.

KISSIN, I. General anesthetic action: an obsolete notion? **Anesth Analg**, 76, n. 2, p. 215-218, Feb 1993.

KONG, H. Y.; ZHU, S. M.; WANG, L. Q.; HE, Y. *et al.* Sevoflurane protects against acute kidney injury in a small-size liver transplantation model. **Am J Nephrol**, 32, n. 4, p. 347-355, 2010.

KOUTSOGIANNAKI, S.; ZHA, H.; YUKI, K. Volatile Anesthetic Isoflurane Attenuates Liver Injury in Experimental Polymicrobial Sepsis Model. **Transl Perioper Pain Med**, 5, n. 3, p. 63-74, 2018.

KUNDUMANI-SRIDHARAN, V.; SUBRAMANI, J.; RAGHAVAN, S.; MAITI, G. P. *et al.* Short-duration hyperoxia causes genotoxicity in mouse lungs: protection by volatile anesthetic isoflurane. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, 316, n. 5, p. L903-L917, May 1 2019.

LEE, H. T.; OTA-SETLIK, A.; FU, Y.; NASR, S. H. *et al.* Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo. **Anesthesiology**, 101, n. 6, p. 1313-1324, Dec 2004.

LEE, Y. M.; SONG, B. C.; YEUM, K. J. Impact of Volatile Anesthetics on Oxidative Stress and Inflammation. **Biomed Res Int**, 2015, p. 242709, 2015.

LIN, X.; JU, Y. N.; GAO, W.; LI, D. M. *et al.* Desflurane Attenuates Ventilator-Induced Lung Injury in Rats with Acute Respiratory Distress Syndrome. **Biomed Res Int**, 2018, p. 7507314, 2018.

LITZ, R. J.; HUBLER, M.; LORENZ, W.; MEIER, V. K. *et al.* Renal responses to desflurane and isoflurane in patients with renal insufficiency. **Anesthesiology**, 97, n. 5, p. 1133-1136, Nov 2002.

LORENTZ, M. N.; HOBAIKA, A. Sistema imune e anestesia. **Rev Méd Minas Gerais** 21, n. 4, p. 444-448, 2011.

LORSOMRADEE, S.; CROMHEECKE, S.; LORSOMRADEE, S.; DE HERT, S. G. Effects of sevoflurane on biomechanical markers of hepatic and renal dysfunction after coronary artery surgery. **J Cardiothorac Vasc Anesth**, 20, n. 5, p. 684-690, Oct 2006.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, 193, n. 1, p. 265-275, Nov 1951.

LUCIO, L. M. C.; BRAZ, M. G.; DO NASCIMENTO JUNIOR, P.; BRAZ, J. R. C. *et al.* [Occupational hazards, DNA damage, and oxidative stress on exposure to waste anesthetic gases]. **Braz J Anesthesiol**, 68, n. 1, p. 33-41, Jan-Feb 2018.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chem Biol Interact**, 224, p. 164-175, Dec 5 2014.

MACHADO-JUNIOR, P. A.; ARAUJO, N. P. S.; SOUZA, A. B. F.; CASTRO, T. F. *et al.* Protective Effects of Quercetin on Livers from Mice Exposed to Long-Term Cigarette Smoke. **Biomed Res Int**, 2020, p. 2196207, 2020.

MACHADO-JUNIOR, P. A.; DE SOUZA, A. B. F.; CASTRO, T. F.; PERUCCI, L. O. *et al.* The deleterious impact of exposure to different inhaled anesthetics is time dependent. **Life Sci**, 309, p. 121004, Nov 15 2022.

MAIA, R. I.; FERNANDES, C. R. [Dawning of inhalational anesthesia: a historical perspective.]. **Rev Bras Anesthesiol**, 52, n. 6, p. 774-782, Nov 2002.

MALACRIDA, L.; RETA, G.; PIRIZ, H.; ROCCHICCIOLI, F. *et al.* Sevoflurane anesthesia deteriorates pulmonary surfactant promoting alveolar collapse in male Sprague-Dawley rats. **Pulm Pharmacol Ther**, 28, n. 2, p. 122-129, Aug 2014.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **Eur J Biochem**, 47, n. 3, p. 469-474, Sep 16 1974.

MARTINI, F.; TIMMONS, M. J.; TALLITSCH, R. B.; OBER, W. C. *et al.* **Human anatomy**. Pearson/Benjamin Cummings San Francisco, CA, 2006. 0805372342.

MAS-BARGUES, C.; GARCIA-DOMINGUEZ, E.; BORRAS, C. Recent Approaches to Determine Static and Dynamic Redox State-Related Parameters. **Antioxidants (Basel)**, 11, n. 5, Apr 28 2022.

MITSUHATA, H.; SHIMIZU, R.; YOKOYAMA, M. M. Suppressive effects of volatile anesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. **Int J Immunopharmacol**, 17, n. 6, p. 529-534, Jun 1995.

MOPPETT, I. J. A.; MEDICINE, I. C. Inhalational anaesthetics. 16, n. 12, p. 641-646, 2015.

MOTAYAGHENI, N.; PHAN, S.; ESHRAGHI, C.; NOZARI, A. *et al.* A Review of Anesthetic Effects on Renal Function: Potential Organ Protection. **Am J Nephrol**, 46, n. 5, p. 380-389, 2017.

NAGATO, A. C.; ROCHA, C. d. L. J. V.; BANDEIRA, A. C. B.; OLIVEIRA, R. M. d. S. *et al.* Morphometric and quantitative analysis of the afferent renal artery variation. 30, n. 2, p. 0-0, 2013.

NISHIYAMA, T. Effects of repeat exposure to inhalation anesthetics on liver and renal function. **J Anaesthesiol Clin Pharmacol**, 29, n. 1, p. 83-87, Jan 2013.

PATEL, S. S.; GOA, K. L. Desflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its efficacy in general anaesthesia. **Drugs**, 50, n. 4, p. 742-767, Oct 1995.

PENITENTE, A. R.; LEITE, A. L.; DE PAULA COSTA, G.; SHRESTHA, D. *et al.* Enalapril in Combination with Benznidazole Reduces Cardiac Inflammation and Creatine Kinases in Mice Chronically Infected with *Trypanosoma cruzi*. **Am J Trop Med Hyg**, 93, n. 5, p. 976-982, Nov 2015.

PIROG, G.; ZEM, P.; DOS SANTOS, M.; DOS SANTOS, R. *et al.* Anatomia Renal. 1, n. 01, 2012.

RAUF, A.; KHALIL, A. A.; AWADALLAH, S.; KHAN, S. A. *et al.* Reactive oxygen species in biological systems: Pathways, associated diseases, and potential inhibitors-A review. **Food Sci Nutr**, 12, n. 2, p. 675-693, Feb 2024.

REICHLE, F. M.; CONZEN, P. F. Halogenated inhalational anaesthetics. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**, 17, n. 1, p. 29-46, Mar 2003.

REUTERSHAN, J.; CHANG, D.; HAYES, J. K.; LEY, K. Protective effects of isoflurane pretreatment in endotoxin-induced lung injury. **Anesthesiology**, 104, n. 3, p. 511-517, Mar 2006.

REZNICK, A. Z.; PACKER, L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. **Methods Enzymol**, 233, p. 357-363, 1994.

ROALDSEN, M.; CIOSEK, T.; ELIN, R.; AL-SAAD, S. *et al.* Isoflurane Increases Tolerance to Renal Ischemia Reperfusion Injury Compared to Propofol: An Experimental Study in Pigs. **J Invest Surg**, 34, n. 4, p. 359-365, Apr 2021.

ROBBINS, S. L. C., Ramzi S.; KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K. **Robbins & cotran-patologia bases patológicas das doenças 8a edição**. Elsevier Brasil, 2010. 8535246339.

ROBINSON, D. H.; TOLEDO, A. H. Historical development of modern anesthesia. **J Invest Surg**, 25, n. 3, p. 141-149, Jun 2012.

RUXANDA, F.; GAL, A. F.; RATIU, C.; MICLAUS, V. *et al.* Comparative immunohistochemical assessment of the effect of repetitive anesthesia with isoflurane and sevoflurane on rat liver. **Braz J Anesthesiol**, 66, n. 5, p. 465-469, Sep-Oct 2016.

SAKAI, E. M.; CONNOLLY, L. A.; KLAUCK, J. A. Inhalation anesthesiology and volatile liquid anesthetics: focus on isoflurane, desflurane, and sevoflurane. **Pharmacotherapy**, 25, n. 12, p. 1773-1788, Dec 2005.

SARACOGLU, K.; BILGILI, B.; SARACOGLU, A. J. G. J. A. Volatile agents and renal transplantation. 7, n. 1, p. 005-008, 2020.

SARAIVA, R. A. [Desflurane: physicochemical properties, pharmacology and clinical use.]. **Rev Bras Anesthesiol**, 53, n. 2, p. 214-226, Apr 2003.

SARAIVA, R. Â. J. R. B. d. A. Mecanismo de ação dos anestésicos inalatórios. 52, p. 114-123, 2002.

SAVRAN KARADENIZ, M.; SENTURK CIFTCI, H.; TEFIK, T.; OKTAR, T. *et al.* Effects of Different Volatile Anesthetics on Cytokine and Chemokine Production After Ischemia-Reperfusion Injury in Patients Undergoing Living-Donor Kidney Transplant. **Exp Clin Transplant**, 17, n. Suppl 1, p. 68-74, Jan 2019.

SHEN, X.; BHATT, N.; XU, J.; MENG, T. *et al.* Effect of isoflurane on myocardial energetic and oxidative stress in cardiac muscle from Zucker diabetic fatty rat. **J Pharmacol Exp Ther**, 349, n. 1, p. 21-28, Apr 2014.

SI, S.; LIU, H.; XU, L.; ZHAN, S. Identification of novel therapeutic targets for chronic kidney disease and kidney function by integrating multi-omics proteome with transcriptome. **Genome Med**, 16, n. 1, p. 84, Jun 19 2024.

SIES, H.; BELOUSOV, V. V.; CHANDEL, N. S.; DAVIES, M. J. *et al.* Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. **Nat Rev Mol Cell Biol**, 23, n. 7, p. 499-515, Jul 2022.

SOARES, N. P.; CAMPOS, K. K.; PENA, K. B.; BANDEIRA, A. C. *et al.* The Effects of the Combination of a Refined Carbohydrate Diet and Exposure to Hyperoxia in Mice. **Oxid Med Cell Longev**, 2016, p. 1014928, 2016.

STEFFEY, E. P.; MAMA, K. R.; BROSANAN, R. J. J. V. a.; LUMB, a. T. f. e. o. *et al.* Inhalation anesthetics. p. 297-331, 2015.

STEFFEY, E. P.; MAMA, K. R.; GALEY, F. D.; PUSCHNER, B. *et al.* Effects of sevoflurane dose and mode of ventilation on cardiopulmonary function and blood biochemical variables in horses. 66, n. 4, p. 606-614, 2005.

STOLLINGS, L. M.; JIA, L. J.; TANG, P.; DOU, H. *et al.* Immune Modulation by Volatile Anesthetics. **Anesthesiology**, 125, n. 2, p. 399-411, Aug 2016.

THOMAS, G. R.; CHEN, Z.; LEUKINOVA, E.; VAN WAES, C. *et al.* Cytokines IL-1 alpha, IL-6, and GM-CSF constitutively secreted by oral squamous carcinoma induce down-regulation of CD80 costimulatory

molecule expression: restoration by interferon gamma. **Cancer Immunol Immunother**, 53, n. 1, p. 33-40, Jan 2004.

TORRI, G. Inhalation anesthetics: a review. **Minerva Anesthesiol**, 76, n. 3, p. 215-228, Mar 2010.

TURKAN, H.; AYDIN, A.; SAYAL, A.; EKEN, A. *et al.* Oxidative and antioxidative effects of desflurane and sevoflurane on rat tissue in vivo. **Arh Hig Rada Toksikol**, 62, n. 2, p. 113-119, Jun 2011.

VAN ROMPAEY, N.; BARVAIS, L. Clinical application of the cardioprotective effects of volatile anaesthetics: CON--total intravenous anaesthesia or not total intravenous anaesthesia to anaesthetise a cardiac patient? **Eur J Anaesthesiol**, 28, n. 9, p. 623-627, Sep 2011.

VIANNA, P. T.; CASTIGLIA, Y. M.; BRAZ, J. R.; VIERO, R. M. *et al.* Remifentanyl, isoflurane, and preconditioning attenuate renal ischemia/reperfusion injury in rats. **Transplant Proc**, 41, n. 10, p. 4080-4082, Dec 2009.

WANG, H.; WANG, L.; LI, N. L.; LI, J. T. *et al.* Subanesthetic isoflurane reduces zymosan-induced inflammation in murine Kupffer cells by inhibiting ROS-activated p38 MAPK/NF-kappaB signaling. **Oxid Med Cell Longev**, 2014, p. 851692, 2014.

WHALEN, F. X.; BACON, D. R.; SMITH, H. M. Inhaled anesthetics: an historical overview. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**, 19, n. 3, p. 323-330, Sep 2005.

YAMAMOTO, M.; MORITA, T.; ISHIKAWA, M.; SAKAMOTO, A. Specific microRNAs are involved in the reno-protective effects of sevoflurane preconditioning and ischemic preconditioning against ischemia reperfusion injury in rats. **Int J Mol Med**, 45, n. 4, p. 1141-1149, Apr 2020.

YOO, Y. C.; SHIM, J. K.; SONG, Y.; YANG, S. Y. *et al.* Anesthetics influence the incidence of acute kidney injury following valvular heart surgery. **Kidney Int**, 86, n. 2, p. 414-422, Aug 2014.

ZHENG, Y.; LU, H.; HUANG, H. Desflurane Preconditioning Protects Against Renal Ischemia-Reperfusion Injury and Inhibits Inflammation and Oxidative Stress in Rats Through Regulating the Nrf2-Keap1-ARE Signaling Pathway. **Drug Des Devel Ther**, 14, p. 1351-1362, 2020.

ZUO, Y.; LI, B.; XIE, J.; MA, Z. *et al.* Sevoflurane anesthesia during pregnancy in mice induces cognitive impairment in the offspring by causing iron deficiency and inhibiting myelinogenesis. **Neurochem Int**, 135, p. 104693, May 2020.

**ANEXOS**

**ANEXO I – Certificado de aprovação CEUA**

---

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estudo dos efeitos da exposição de diferentes anestésicos inalatórios em camundongos adultos saudáveis", protocolada sob o CEUA nº 3476160320 (ID 000391), sob a responsabilidade de **Frank Silva Bezerra** e equipe; *Pedro Alves Machado Junior* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata; subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Ouro Preto (CEUA/UFOP) na reunião de 19/06/2020.

We certify that the proposal "Study of the effects of exposure to different inhaled anesthetics in healthy adult mice", utilizing 224 isogenics mice (224 males), protocol number CEUA 3476160320 (ID 000391), under the responsibility of **Frank Silva Bezerra** and team; *Pedro Alves Machado Junior* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Ouro Preto Federal University (CEUA/UFOP) in the meeting of 06/19/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de 09/2020 a 09/2021

Área: **Ciências Biológicas**

Origem: **Centro de Ciência Animal**

Espécie: **Camundongos isogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **4 a 5 semanas**

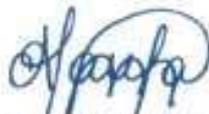
N: **224**

Linhagem: **C57BL/6**

Peso: **15 a 16 g**

Local do experimento: Laboratório de Fisiopatologia Experimental (LAFEx), Sala 53, ICEB 2 - Telefone: (31) 3559-1216

Ouro Preto, 19 de junho de 2020



Prof. Dra. Paula Melo de Abreu Viêira  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Ouro Preto



Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso  
Vice-Cordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Ouro Preto

## ANEXO II – FeSBE

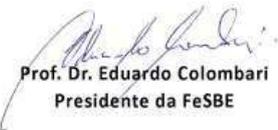


### Certificado

Certificamos que o resumo intitulado

**08.004 - RENAL EFFECTS OF INHALED ANESTHETIC EXPOSURE IN HEALTHY ADULT MICE - Nogueira-Silva L, Machado-Junior P, Souza ABF, Mota AT, Cangussú SD, Bezerra FS, Departamento de Ciências Biológicas - UFOP**

foi apresentado em forma de Painel durante a XXXVII Reunião Anual da FeSBE realizada no período 27 a 30 de agosto de 2023, no Hotel Atlântico Búzios, em Búzios, RJ.

  
 Prof. Dr. Eduardo Colombari  
 Presidente da FeSBE

Patrocinador



Apoio



## ANEXO II – Encontro de saberes





**República Federativa do Brasil**  
**Ministério da Educação**  
**Universidade Federal de Ouro Preto**  
 Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação  
 Pró-Reitoria de Graduação  
 Pró-Reitoria de Extensão e Cultura  
 Pró-Reitoria de Assuntos Comunitários e Estudantis  
 Diretoria de Relações Internacionais



# CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **POSSÍVEIS EFEITOS RENAIIS DA EXPOSIÇÃO DE ANESTÉSICOS INALATÓRIOS EM CAMUNDONGOS ADULTOS SAUDÁVEIS.**, de autoria de **LUDMILA NOGUEIRA SILVA, PEDRO ALVES MACHADO JUNIOR, ANA BEATRIZ FARIAS DE SOUZA, ANANDA TOLENTINO MOTA, SILVIA DANTAS CANGUSSU e FRANK SILVA BEZERRA**, foi apresentado no **XXXI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA** do **ENCONTRO DE SABERES – UFOP**, realizado de **20 a 24 de Novembro de 2023**.

Ouro Preto, 24 de Novembro de 2023.

  
Ludmila Nogueira  
Pró-Reitora de Extensão e Cultura

  
Pedro Alves Machado Junior  
Pró-Reitor de Graduação

  
Ana Beatriz Farias de Souza  
Pró-Reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação

  
Ananda Tolentino Mota  
Diretor de Relações Internacionais

  
Frank Silva Bezerra  
Pró-Reitor de Assuntos Comunitários e Estudantis

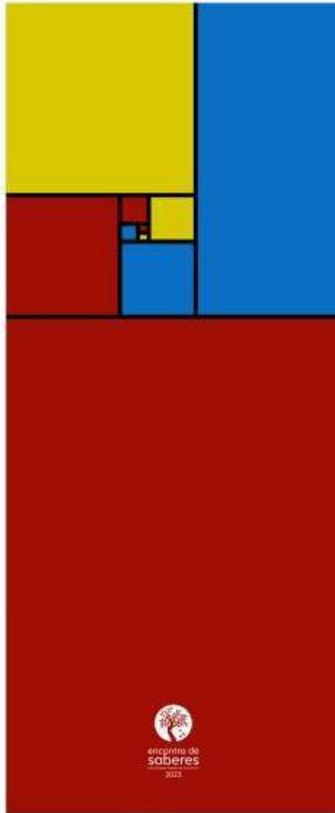
Autenticidade



Código: 1702303576657717581f7c4

Este certificado foi gerado eletronicamente e sua autenticidade poderá ser atestada informando o código em [www.encontrodesaberes.ufop.br/certificados](http://www.encontrodesaberes.ufop.br/certificados)

## ANEXO III – Menção Honrosa



República Federativa do Brasil  
Ministério da Educação  
Universidade Federal de Ouro Preto  
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação  
Pró-Reitoria de Graduação  
Pró-Reitoria de Extensão e Cultura  
Pró-Reitoria de Assuntos Comunitários e Estudantis  
Diretoria de Relações Internacionais



### CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **Possíveis efeitos renais da exposição de anestésicos inalatórios em camundongos adultos saudáveis** de autoria de: **LUDMILA NOGUEIRA SILVA**, orientador(a) Frank Silva Bezerra, coorientador(a) Pedro Alves Machado Junior e coautoria de Ana Beatriz Farias de Souza, Ananda Tolentino Mota e Sílvia Dantas Cangussu, recebeu o PRÊMIO MENÇÃO HONROSA, entre os trabalhos da área de CIÊNCIAS DA VIDA, apresentado no **XXXI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA** do XV Encontro de Saberes da UFOP, realizado de 20 a 24 de Novembro de 2023.

Ouro Preto, 24 de Novembro de 2023.

Autenticidade



Código: 1701204720656652f06d97c

 Sandra Fátima Almeida Nogueira Pró-Reitora de Extensão e Cultura	 Allison Pereira dos Santos Pró-Reitor de Graduação	 Renata Guerra de Sa Cola Pró-Reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
 Anderson Gamarano Diretor de Relações Internacionais	 Máximo Espósito Marinho Pró-Reitor de Assuntos Comunitários e Estudantis	

Este certificado foi gerado eletronicamente e sua autenticidade poderá ser atestada informando o código em [www.encontrodesaberes.ufop.br/certificados](http://www.encontrodesaberes.ufop.br/certificados)