

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta dissertação será disponibilizado
somente a partir de 03/06/2019.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Thalita Leone Alves Rocha

**Avaliação do status antioxidante, das citocinas
inflamatórias e metaloproteinases em ratos
anestesiados com isoflurano ou sevoflurano**

Orientador: Prof.Dr. Carlos Alan Candido Dias Junior

Botucatu
2018

Thalita Leone Alves Rocha

**Avaliação do status antioxidante, das citocinas
inflamatórias e metaloproteinases em ratos
anestesiados com isoflurano ou sevoflurano**

Tese apresentada à Faculdade
de Medicina, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do
título de Doutor em
Anestesiologia

Orientador: Prof.Dr. Carlos Alan Candido Dias Junior

Botucatu
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Rocha, Thalita Leone Alves.

Avaliação do status antioxidante, das citocinas inflamatórias e metaloproteinases em ratos anestesiados com isoflurano e sevoflurano / Thalita Leone Alves Rocha.
- Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Carlos Alan Candido Dias Junior
Capes: 40102130

1. Éter (Anestésico). 2. Isoflurano. 3. Estresse oxidativo. 4. Aorta. 5. Metaloproteinases da Matriz.

Palavras-chave: Isoflurano ; Sevoflurano; aorta; estresse oxidativo.

Thalita Leone Alves Rocha

**Avaliação do status antioxidante, das citocinas
inflamatórias e metaloproteinases em ratos
anestesiados com isoflurano ou sevoflurano**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de doutor.

Banca examinadora

Prof. Dr. Carlos Alan Candido Dias Junior
Instituto de Biociências de Botucatu/UNESP

Profa. Dra. Patrícia de Souza Rossignoli
Faculdade de Filosofia e Ciências/UNESP

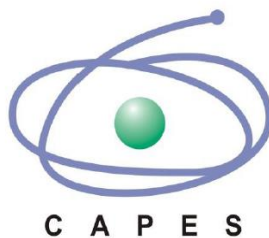
Profa. Dra. Cristina Antoniali Silva
Faculdade de Odontologia de Araçatuba/UNESP

Prof. Dr. Fernando Silva Carneiro
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP

Profa. Dra. Elen Rizzi Sanchez
Universidade de Ribeirão Preto/UNAERP

Botucatu, 03 de Dezembro de 2018

Financiamento



(Bolsa CAPES- doutorado: Período de vigência 03/2016 – 11/2018)



**Proc. 16/18782-3
(Auxílio regular à pesquisa)**

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho primeiramente a Deus, meu mestre e guia nessa caminhada terrena. Aos meus pais, **Mônica e Ricardo** e ao meu “segundo pai” **Sérgio**, pela dedicação absoluta a minha educação e por sempre acreditarem no meu potencial.*

*Ao meu marido, **Leonardo**, e minha filha **Mainá**, por estarem comigo, ensinando-me e apoiando-me em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A toda minha família pelo carinho e amor incondicional. Por me ajudarem a superar os momentos difíceis e por sempre torcerem por mim nos períodos de transformação e novos desafios.

Ao Prof. Carlos Alan Candido Dias Junior, pelos cinco anos de orientação. Por toda a confiança em mim depositada. Por exigir sempre o melhor de mim, apostando no meu crescimento e no meu potencial. Gratidão eterna pelos ensinamentos e apoio.

Ao meu marido Leonardo, pelo companheirismo, amor, carinho, dedicação, compreensão, alegria e bom humor. Muito obrigada por tornar minha vida mais leve e feliz.

A minha filha Mainá por me mostrar o verdadeiro sentido da palavra amor. Por auxiliar-me na reconexão com minha criança interna. Pelos ensinamentos diários e por trazer a tona meus maiores medos, minhas sombras e frustrações, para que dessa forma pudessem ser superadas, Muito obrigado por ter escolhido a mim como sua mãe. Te amo incondicionalmente!

AGRADECIMENTOS

*Aos meus queridos amigos de laboratório **Jéssica** (Jess), **Regina** (Regis), **José Sérgio** (Zezito), **Ediléia** (Léia) e **Leticia** (Létis), **Gabriela** (Gabis), **Teubislete** (Bila), **André Miller** e **Hélio** por fazerem parte da minha vida nesses últimos anos. Por toda amizade, companheirismo, trabalho em equipe, trapalhadas e risadas. Vocês foram e sempre serão importantes na minha vida.*

*Aos meus amigos de pós-graduação: **Nathalia** (Nati) e **Brayan** agradeço pela amizade, apoio e ajuda imprescindível.*

*A **Profª Drª Elen Rizzi**, e as colegas **Giselle F. Bonacio**, e **Katiussia Pinho da Silva** pela imensa colaboração durante a realização desse trabalho .*

*A **Tatiane**, por se demonstrar sempre muito prestativa e disposta em ajudar no que fosse preciso.*

*A **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro durante o mestrado.*

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse concretizado.

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis."

(José de Alencar)

Resumo

ROCHA, T. L. A. **Avaliação do status antioxidante, das citocinas inflamatórias e metaloproteinases em ratos anestesiados com isoflurano e sevoflurano.** Botucatu, 2018. Tese (Doutorado em Anestesiologia) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu.

O presente estudo teve por objetivo investigar e comparar as alterações relacionadas à reatividade vascular e aos biomarcadores de estresse oxidativo e da inflamação em ratos anestesiados com isoflurano ou sevoflurano. Para alcançar nossos objetivos, ratos Wistar machos adultos foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais: não anestesiado (grupo controle) e anestesiados com isoflurano (grupo Iso) ou sevoflurano (grupo Sevo). A responsividade vascular à fenilefrina (PHE) e acetilcolina (ACh) na presença ou ausência de éster N-nitro-L-arginina-metilico (L-NAME) foram avaliadas em anéis de aorta torácica com endotélio intacto (E +) e endotélio desnudo (E-). Os metabólitos do óxido nítrico (NO) (NOx), a peroxidação lipídica, a função antioxidante, os níveis de citocinas e a atividade das metaloproteinases de matriz extracelular (MMPs) também foram avaliados. Nenhuma diferença significativa foi observada com relação aos dados hemodinâmicos e temperatura entre os grupos anestesiados. Nos anéis com endotélio intacto, a anestesia com o sevoflurano reduziu a vasoconstrição induzida pela PHE e pelo KCL quando comparado ao grupo controle e Iso, respectivamente ($P < 0.05$). O isoflurano aumentou significativamente a vasoconstrição induzida pela PHE e pelo KCl, nos anéis com endotélio desnudo ($P < 0.05$). Níveis de NO reduzidos foram observados após a anestesia com sevoflurano ($P = 0.01$), mas não com isoflurano. O estresse oxidativo foi significativamente aumentado em ambos os grupos anestesiados quando comparado com o grupo Control ($P < 0.05$). O isoflurano aumentou os níveis de IL-1 β , enquanto o sevoflurano reduziu a IL-10 e IL1 β . Aumentos da atividade de MMP-2 na aorta foram observados somente no grupo anestesiado com sevoflurano ($P < 0.05$). Os resultados demonstram que 150 minutos de

anestesia com sevoflurano, mas não com isoflurano, prejudicam a responsividade vascular aos agentes vasoconstritores. Além disso, enquanto os dois anestésicos aumentam o estresse oxidativo, apenas o sevoflurano reduz os níveis de NO e citocinas e aumenta da atividade das MMPs.

Palavras Chave: isoflurano, sevoflurano estresse oxidativo, metaloproteinases de matriz extracelular.

Abstract

ROCHA, T. L. A. **Evaluation of the antioxidant status of inflammatory cytokines and metalloproteinases in rats anesthetized with isoflurane and sevoflurane.** 2018. Tese (PhD in Anesthesiology) – School of Medicine, São Paulo State University, “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2018.

The current study aimed to investigate and compare the changes on vascular reactivity, biomarkers of oxidative stress and inflammation of rats anesthetized with isoflurane or sevoflurane. Adult Wistar rats were assigned to three experimental groups (n = 6 per group): Non-anesthetized (Control group) and anesthetized with isoflurane (Iso group) or sevoflurane (Sevo group). Vascular responsiveness to phenylephrine (PHE) and acetylcholine (ACh) in the presence or absence of N ω -nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME) was evaluated in thoracic aortic rings with intact endothelium (E+) and denuded endothelium (E-). Nitric oxide (NO) metabolites (NOx), lipid peroxidation, antioxidant function, cytokines levels and matrix metalloproteinases (MMPs) activity were also assessed. In intact endothelium-aortic rings sevoflurane impairs PHE-induced vasoconstriction versus control group and reduces KCl-induced vasoconstriction versus Iso group (P < 0.05). In denuded endothelium-aortic rings isoflurane increases vasoconstriction induced by both PHE and KCl (P < 0.05). Sevoflurane, but not isoflurane, reduces NO (P = 0.01). Oxidative stress was increased in Sevo and Iso groups (P < 0.05). While sevoflurane reduced IL-10 and IL-1 β , isoflurane increased IL-1 β . MMP-2 activity in aorta was increased in Sevo (P < 0.05), but not in Iso group. We concluded that 150 minutes of anesthesia with sevoflurane, but not with isoflurane, impairs vascular responsiveness to vasoconstrictors agents. Also, while both anesthetics increased oxidative stress, only sevoflurane reduced NO and cytokines and increased MMPs activity.

Keywords: isoflurane, sevoflurane, oxidative stress, extracellular matrix metalloproteinases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de ação do óxido nítrico na célula muscular lisa.....	22
Figura 2. Preparação dos anéis isolados de aorta para avaliação da reatividade vascular.....	35
Figura 3. Representação da contração induzida por KC a 96 mM e das curvas concentração-resposta ao KCl e a PHE determinadas em preparações isoladas de aorta torácica.....	47
Figura 4. Representação gráfica das curvas concentração-resposta a ACh na ausência e presença do L-NAME em preparações isoladas de aorta torácica.....	48
Figura 5. Representação dos valores de Total NOx na aorta	50
Figura 6. Representação dos valores de MDA no plasma.....	51
Figura 7. Representação dos valores de citocinas na aorta	52
Figura 8. Representação do gel de zimograma e dos valores de densitometria das MMP-2 e MMP-9 no plasma.....	53
Figura 9. Representação do gel de zimograma e dos valores de densitometria das MMP-2: 75, 72 e 64 kDa e total na aorta.	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis hemodinâmicas e temperatura de ratos anestesiados com 2-2,5% de isoflurano (grupo Iso) ou 3-3,5% de sevoflurano (grupo Sevo).....	45
Tabela 2. Valores de E_{max} e pEC_{50} para KCl , PHE e ACh na ausência ou na presença de L-NAME, obtidos de animais pertencentes aos grupos Controle, Iso e Sevo.	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ACh - acetilcolina

°C- graus centígrados

cGMP - guanosina monofosfato cíclica

ELISA - ensaio de imuno adsorção enzimática

E_{max} - efeito máximo

eNOS - óxido nítrico sintase endotelial

EROs - espécies reativas de oxigênio

ERN - espécies reativas de nitrogênio

FC - frequência cardíaca

FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power

GCs - guanilato ciclase solúvel

iNOS - óxido nítrico sintase induzível

KCl - cloreto de potássio

LDL - *low density lipoprotein*

L-NAME - N ω -nitro-L-arginina-metil éster

MDA - malondialdeído

MLV – músculo liso vascular

MMP - metaloproteinases de matriz extracelular

mmHg - milímetros de mercúrio

nNOS - óxido nítrico sintase neuronal

NO - óxido nítrico

NOS - óxido nítrico sintase

PAD - pressão arterial diastólica

PAM - pressão arterial média

PAS- pressão arterial sistólica

pEC₅₀ - logarítmo negativo da EC₅₀

PHE - fenilefrina

PKG - proteína quinase G

RL - radical livre

rpm - rotação por minuto

SDS - Dodecil sulfato de sódio

TBA - Ácido tiobarbitúrico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	19
1.1 Anestésicos Voláteis	19
1.2 Anestésicos voláteis e endotélio	20
1.3 Anestésicos voláteis e estresse oxidativo.....	23
1.4 Anestésicos voláteis e inflamação	25
1.5 Metaloproteinases da matriz extracelular (MMP)	27
JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	30
MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1 Animais	32
3.2 Preparo dos animais e anestesia	32
3.3 Isolamento e montagem das preparações de aorta torácica	34
3.3.1 Curvas concentração-resposta	36
3.3.2 Análise de parâmetros farmacológicos	37
3.4 Determinação de nitrito / nitrato (total NOx)	37
3.5 Determinação da peroxidação lipídica.....	38
3.6 Determinação da capacidade oxidante total.....	39
3.7 Determinação de citocinas em amostras de aorta	39
3.8 Atividades das MMPs em amostras de plasma e aorta	40
3.9 Análise estatística	41
RESULTADOS	44
4.1 Efeitos do isoflurano e sevoflurano sobre a temperatura e parâmetros hemodinâmicos	44
4.2 Efeitos do isoflurano e sevoflurano na reatividade vascular em aorta torácica com endotélio intacto e desnudo.....	46
4.3 Efeitos do isoflurano e sevoflurano na produção de óxido nítrico, peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total.....	50
4.4 Efeitos do isoflurano e sevoflurano na liberação de citocinas em aorta	51
4.5 Efeitos do isoflurano e sevoflurano na atividade de MMP-9 e MMP-2 em plasma e aorta	52

DISCUSSÃO	56
CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS	65

Introdução

INTRODUÇÃO

Estima-se que, anualmente, aproximadamente 100 milhões de pessoas sejam submetidas a procedimentos cirúrgicos, sendo que a maior parte desses procedimentos é realizada sob anestesia geral inalatória (Eckenhoff *et al.*, 2004). Por essa razão, tem-se discutido amplamente quais seriam os possíveis danos à saúde ocasionados pelo uso dos anestésicos voláteis (Karabıyık *et al.*, 2001).

Estudos prévios *in vitro* têm demonstrado que os agentes halogenados, como o isoflurano e o sevoflurano, podem interferir na resposta vasomotora (Nakamura *et al.*, 1994; Kazuma *et al.*, 2018), entretanto, existem poucas pesquisas avaliando os efeitos do uso desses anestésicos após administração por via inalatória (Samarska *et al.*, 2009).

Além disso, embora estudos experimentais e epidemiológicos tenham associado o emprego dos anestésicos voláteis a aumentos dos níveis de estresse oxidativo e imunossupressão pós-operatória, esses resultados ainda se apresentam controversos (Kurosawa, Shin e Kato, Masato, 2008; Türkan *et al.*, 2011; Jin *et al.*, 2013).

1.1 Anestésicos Voláteis

Os anestésicos voláteis têm sido utilizados há mais de 150 anos para fornecer anestesia geral (Capey, 2007). O emprego desses agentes inalatórios teve como marco histórico a demonstração pública bem sucedida do uso do dietil éter por William Morton, em meados dos anos 1840 (Chang *et al.*, 2015). Desde então,

a anestesiologia passou por grandes transformações, à medida que novos anestésicos, como o óxido nitroso (N₂O), o clorofórmio e o tricloroetileno, foram se consagrando (Campagna, Miller e Forman, 2003).

A síntese e a introdução dos agentes halogenados, pós-segunda guerra mundial, representou outro profundo avanço no desenvolvimento da anestesia, dando início a era moderna da anestesiologia (Stachnik, 2006).

Dentre os anestésicos inalatórios contemporâneos mais utilizados, para indução e manutenção da anestesia, na rotina cirúrgica atual estão o isoflurano e o sevoflurano (Eger, 1994). Esse fato se deve à vantagem dos dois anestésicos terem baixos coeficientes de partição sangue-gás, o que lhes confere uma rápida indução e recuperação da anestesia, sobretudo quando comparados a anestésicos halogenados mais antigos como o halotano (Eger Ei, 2004).

Apesar da eficácia e da segurança demonstradas por algumas décadas de uso clínico do isoflurano e do sevoflurano, ainda há inúmeros questionamentos a serem respondidos referente a potencial influência desses anestésicos na resposta vascular, no equilíbrio redox e no perfil inflamatório.

1.2 Anestésicos voláteis e endotélio

O conhecimento sobre a função do endotélio vascular, antes considerado apenas uma barreira física, mudou consideravelmente depois que Furchgot e Zawadski demonstraram sua participação na regulação do tônus vascular (Furchgott e Zawadzki, 1980). Desde então, tem sido implicado às células

endoteliais vasculares inúmeras funções específicas, que ultrapassam a modulação do tônus vascular, como: controle da coagulação e fibrinólise, remodelamento vascular, participação na resposta inflamatória e imune, entre outras (Khazaei, Moien-Afshari e Laher, 2008).

O endotélio é responsável por sintetizar e liberar, em resposta a estímulos fisiológicos e neuro-humorais, uma variedade de substâncias vasoativas que contribuem para a manutenção da homeostase vascular (Sandoo *et al.*, 2010). Dentre essas substâncias liberadas pela célula endotelial a que possui maior relevância é o óxido nítrico (NO). Esse gás, cuja meia vida é extremamente curta, é sintetizado a partir da conversão de L-arginina em L-citrulina por ação de uma família de enzimas denominadas óxido nítrico sintases (NOS) (Förstermann e Sessa, 2012). Existem atualmente três isoformas de NOS reconhecidas: a NOS neuronal (nNOS ou NOS 1), a NOS indutível (iNOS ou NOS 2) e a NOS endotelial (eNOS ou NOS 3). No leito vascular, a principal responsável pela produção de NO é a eNOS (Alderton, Cooper e Knowles, 2001).

Em condições fisiológicas, a força de arraste e a tensão de cisalhamento (*shear stress*) exercida pelo fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais leva a formação basal de NO (Vallance e Chan, 2001). O NO produzido a partir da eNOS difunde-se do endotélio para o músculo liso vascular e ativa a enzima guanilato ciclase solúvel (GCs) causando um aumento do monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) (Palmer *et al.*, 1988). Este, por sua vez, ativa a proteína quinase G (PKG) iniciando uma cascata de sinalização celular que resulta em redução do cálcio intracelular e, conseqüentemente, em relaxamento vascular

(Moncada e Higgs, 1993). Além disso, a liberação do NO também pode ocorrer devido a estimulação de receptores farmacológicos presentes nas membranas das células endoteliais, como os receptores muscarínicos (Moncada, Palmer e Higgs, 1991), receptores α_2 e β_2 , receptor de bradicinina, etc (Vanhoutte *et al.*, 2017).

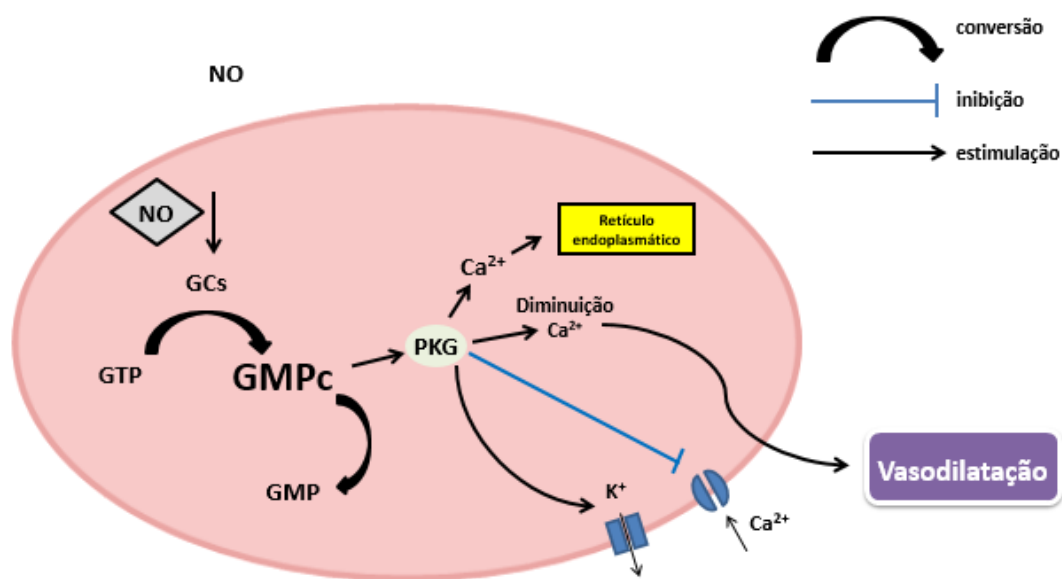


Figura 1. Mecanismo de ação do óxido nítrico na célula muscular lisa. (Reproduzido de Gonçalves-Rizzi, 2018).

Situações patológicas ou que resultem em acúmulo de radicais livres e/ou espécies reativas de oxigênio (EROs) nos tecidos vasculares podem reduzir produção ou biodisponibilidade do NO e, em paralelo, aumentar a liberação de substâncias vasoconstritoras, prejudicando a função endotelial. Esse processo é

denominado como disfunção endotelial (Vallance e Chan, 2001; Endemann e Schiffrin, 2004)

Sabe-se que grande parte dos anestésicos gerais, incluindo os inalatórios, podem influenciar mecanismos celulares e moleculares que participam da regulação do tônus vascular (Akata, 2007). Os anestésicos voláteis tem demonstrado promover alteração na resistência vascular periférica por ação direta na musculatura lisa vascular (MLV) e/ou nas células endoteliais em vários leitos vasculares (Akata, Izumi e Nakashima, 2000; Toda, Toda e Hatano, 2007). Diversos estudos *in vitro*, mostraram que os halogenados, como o isoflurano e o sevoflurano, interferem no relaxamento dependente do endotélio por meio de diferentes mecanismos, os quais ainda não estão completamente elucidados (Toda *et al.*, 1992; Blaise *et al.*, 1997; Kazuma *et al.*, 2018). Enquanto o isoflurano inibe a formação de NO no endotélio, possivelmente por atuação nos receptores muscarínicos, proteína G, canais de cálcio ou na atividade da eNOS (Nakamura *et al.*, 1994), o sevoflurano parece prejudicar a vasodilatação por inativação do NO, via liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Yoshida e Okabe, 1992).

1.3 Anestésicos voláteis e estresse oxidativo

Sabe-se que os radicais livres (RL), as EROs e as espécies reativas de nitrogênio (ERN) são constantemente produzidas pelo organismo como resultado do metabolismo aeróbio normal (Birben *et al.*, 2012). Em condições fisiológicas, a produção de EROs e ERN é baixa e o sistema antioxidante endógeno é capaz de

neutralizar de maneira efetiva esses agentes. Contudo, quando a produção de RL e/ou espécies reativas supera a capacidade de ação dos antioxidantes há a instalação de um processo denominado “estresse oxidativo” (Schieber e Chandel, 2014). Esse processo, por sua vez, pode ocasionar a oxidação de biomoléculas e/ou desequilíbrio homeostático, resultando na perda de diversas funções celulares (Incalza *et al.*, 2018). Por causa disso, o estresse oxidativo possui um papel importante na etiologia de várias patologias, como as doenças neurodegenerativas, doenças vasculares, cardíacas e câncer (Uttara *et al.*, 2009; Sosa *et al.*, 2013; Incalza *et al.*, 2018).

A produção elevada de EROs pode induzir disfunção e remodelamento vascular por meio de danos oxidativos (Xu e Touyz, 2006). A formação das EROs, no leito endotelial, é mediada por algumas enzimas vasculares que incluem a NAD(P)H oxidase, xantina oxidase, mieloperoxidase, eNOS desacoplada, isoenzimas da citocromo P450, lipooxigenase, ciclooxigenase, heme oxigenase e glicose oxidase. Entretanto, a principal fonte de EROs no endotélio vascular parece ser a NAD(P)H oxidase (Cai e Harrison, 2000).

Além disso, as EROs foram reconhecidas como moléculas sinalizadoras por mediar respostas celulares específicas na vasculatura, incluindo a expressão de mediadores pró-inflamatórios e a ativação de MMPs (Taniyama e Griendling, 2003). A esse respeito, as EROs podem provocar a ativação de fatores de transcrição, como NF- κ B, AP-1, fator nuclear de células T ativadas (NFAT) e fator 1 induzido por hipóxia (HIF-1), que estão diretamente envolvidos na resposta inflamatória. O NF- κ B regula a expressão de vários genes que participam da

resposta imune, entre eles a IL-1 β , IL-6, fator de necrose tumoral- α (FNT- α), IL-8 e várias outras moléculas de adesão (Forrester *et al.*, 2018).

Estudos tem demonstrado que os anestésicos halogenados podem induzir estresse oxidativo por meio da formação de compostos reativos ou liberação de EROs (Jaloszynski *et al.*, 1999; Alleva *et al.*, 2003). Cerca de 5% do volume de sevoflurano inalado é metabolizado no fígado pela isoenzima citocromo P450, (Kharasch, 1995), o que pode desencadear a formação de peroxinitrito e aumentar peróxidos intracelulares e óxido nítrico, elevando a produção de EROs (Brozovic *et al.*, 2008).

Embora, nas últimas décadas, uma série de estudos *in vitro*, em animais e em humanos, tenham sido realizados para determinar os efeitos do isoflurano e sevoflurano no estresse oxidativo, os resultados ainda se mostram contraditórios, o que reforça a necessidade da realização de mais pesquisas envolvendo o assunto (Lee, Y.-M., Song, B. C. e Yeum, K.-J., 2015).

1.4 Anestésicos voláteis e inflamação

A inflamação é um processo fisiológico que tem como função proteger o organismo de estímulos nocivos, como infecção por agentes patogênicos ou injúria mecânica (Medzhitov, 2008). O processo inflamatório desempenha um papel fundamental na reparação tecidual e na cicatrização, no entanto uma reação inflamatória exacerbada pode causar inúmeras complicações, principalmente em

situações pós-operatórias. (Dąbrowska e Słotwiński, 2014; Eming, Wynn e Martin, 2017).

Sabe-se que a anestesia geral, assim como o estresse oriundo do ato cirúrgico, pode influenciar as respostas inflamatórias essenciais para a manutenção do estado homeostático (Stollings *et al.*, 2016). Esse fato se deve a atuação dos anestésicos sobre a imunidade celular, uma vez que alteram tanto as funções de células imunocompetentes como a expressão de genes responsáveis pela produção de mediadores inflamatórios (Kurosawa, S. e Kato, M., 2008).

Em indivíduos saudáveis submetidos à cirurgia eletiva ou pouco invasiva os efeitos causados pela anestesia nas células imunológicas parece não oferecer grandes prejuízos, entretanto pacientes com disfunção pré-existente do sistema imune, sepse e falência múltipla de órgãos, bem como em pacientes com alto risco de complicações perioperatórias, o tipo de anestésico usado e o método de anestesia podem ter implicações clínicas importantes (Cheng, 2005).

Os efeitos imunomoduladores dos anestésicos voláteis têm sido estudados há várias décadas (Mcbride, Armstrong e Mcbride, 1996). Embora muitos estudos tenham se concentrado nos efeitos imunossupressores desses agentes, evidências também apontam para a imunoativação (Stollings *et al.*, 2016).

Considerando que a imunossupressão pode aumentar a possibilidade de pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos apresentarem infecções no pós-operatório (Dąbrowska e Słotwiński, 2014), é de suma importância que qualquer efeito promovido pelos anestésicos voláteis sobre as células que participam na regulação do sistema imune seja esclarecido.

Atualmente, ainda não existe um consenso a respeito da ação dos diferentes anestésicos halogenados nos mediadores inflamatórios, uma vez que o perfil das citocinas envolvidas nesse processo parece diferir conforme o tipo de cirurgia, ou anestésico empregado (Cheng, 2005; Markovic-Bozic *et al.*, 2016).

1.5 Metaloproteinases da matriz extracelular (MMP)

As MMPs constituem uma família de enzimas proteolíticas zinco dependentes, que se apresentam distribuídas em várias tecidos, incluindo células da musculatura lisa vascular, células endoteliais, fibroblastos e células inflamatórias (Ohbayashi, 2002). Essas enzimas são essenciais para o remodelamento tecidual e estão envolvidas na degradação de vários componentes da matriz extracelular (Bonnans, Chou e Werb, 2014).

Baseado em sua afinidade por determinados substratos degradados por elas, as MMPs podem ser classificadas em collagenases, gelatinases, estromelinas, matrilisinas e MMPs de membrana (Geurts, Opendakker e Van Den Steen, 2012). Em geral, elas são compostas por uma mesma estrutura, contendo pré e pós-domínios, seguidos de um domínio catalítico e uma porção C terminal. O domínio catalítico é uma região altamente conservada, onde ocorre a ligação de íons de zinco, essencial para a manutenção da atividade enzimática (Nagase, 1997; Spinale, 2007).

Em condições normais, há uma regulação da secreção das MMPs, as quais são sintetizadas e secretadas como pró-enzimas, chamadas de zimógenos, que

permanecem adormecidas até serem ativadas e tornarem-se proteolíticas (Woessner, 1991). Em tecidos saudáveis, os níveis de MMPs são relativamente baixos, e aumentos excessivos ou desequilibrados dos níveis dessas enzimas podem predispor o organismo a várias doenças como aterosclerose, aneurisma e outras doenças cardiovasculares (Visse e Nagase, 2003). Além disso, o aumento de MMPs pode estar associado a processos inflamatórios (Galis e Khatri, 2002). Dentre essas enzimas proteolíticas, as MMP-2 e MMP-9 são as que apresentam um papel mais importante nas doenças citadas acima (Dollery, Mcewan e Henney, 1995) (Spinale *et al.*, 2000).

A atividade das MMPs pode ser regulada por vários fatores como: estresse oxidativo, citocinas, hormônios, fatores de crescimento e estresse de cisalhamento (Chen *et al.*, 2013). Os RL/EROs, e o resultante estresse oxidativo, podem afetar diretamente e indiretamente a atividade das MMPs. No processo direto, pode haver o envolvimento da oxidação ou nitrosilação das MMPs, resultando em sua ativação (Jian Liu e Rosenberg, 2005). No processo indireto, as EROs atuam sobre elementos redox-sensíveis existentes em fatores de transcrição, como NF κ B ou AP-1, conhecidos por terem sítios de ligação em diversos genes de MMPs (Sen e Packer, 1996; Jian Liu e Rosenberg, 2005). Portanto, situações que suscitam o estresse oxidativo podem fazer com que as MMPs sejam ativadas.

Até o momento, há na literatura ao nosso alcance poucos relatos sobre a atividade das MMPs após exposição aos anestésicos voláteis (Müller-Edenborn *et al.*, 2012).

disso, foram observados aumentos da capacidade antioxidante sistêmica após anestesia com isoflurano em um estudo anterior realizado por nosso grupo de pesquisa (Rocha *et al.*, 2015). Essa divergência de dados em relação ao estresse oxidativo e ao perfil antioxidante entre os estudos podem ser explicados por diferenças no tempo de exposição, concentração anestésica utilizada, idade dos animais e, principalmente, metodologias empregadas.

Tem sido relatado que as EROs e o resultante estresse oxidativo podem afetar direta e indiretamente a atividade das MMPs (Jian Liu e Rosenberg, 2005). Nossa hipótese era de que, com base nos resultados encontrados por nós nos níveis de estresse oxidativo, o isoflurano e o sevoflurano poderiam aumentar a atividade das MMPs. Essa hipótese foi parcialmente confirmada no presente estudo, uma vez que foram observadas diferenças significativas nas atividades da MMP-2 na aorta do grupo Sevo. Nós sugerimos que esses resultados possam estar relacionados, novamente, a ação do H_2O_2 no leito vascular, visto que já foi descrito que ele desempenha um papel relevante na mediação do remodelamento vascular por meio do aumento da expressão da MMP-2 no endotélio (Belkhiri *et al.*, 1997).

Além dos mecanismos propostos acima, nós observamos que os ratos anestesiados com sevoflurano apresentaram redução na biodisponibilidade de NO e aumento na atividade da MMP-2. Estes achados corroboram estudos anteriores sugerindo que o NO pode regular negativamente as MMPs (Eberhardt *et al.*, 2000; Demacq *et al.*, 2008; Metzger, Sandrim e Tanus-Santos, 2012; Meschiari *et al.*, 2013; Nascimento *et al.*, 2018).

Sabe-se que o trauma cirúrgico e a anestesia afetam muitas funções do sistema imunológico (Kurosawa, S. e Kato, M., 2008). Relatou-se que os anestésicos voláteis apresentam efeitos imunossupressores em várias células imunológicas (Stollings *et al.*, 2016). Em nosso estudo a anestesia com sevoflurano levou a significativa redução dos níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias, IL-1 β e TNF- α , e anti-inflamatória, IL-10. Esses resultados estão em conformidade com outros achados *in vitro* relacionados ao sevoflurano (Mitsuhata, Shimizu e Yokoyama, 1995). Por outro lado, os aumentos encontrados por nós nos níveis de IL-1 β nos animais anestesiados com isoflurano não estão de acordo com relato anterior, em que esse anestésico reduziu a liberação dessas citocinas pró-inflamatória (Cheng, 2005).

Conclusão

CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados permitem concluir que a anestesia com sevoflurano, mas não com isoflurano, atenua a contração mediada por agonista α_1 adrenoceptor em anéis de aorta torácica de ratos. Além disso, apesar de o sevoflurano e o isoflurano terem o potencial de aumentar o estresse oxidativo, apenas o sevoflurano reduz significativamente a liberação de NO e citocinas e aumenta a atividade da MMP-2.

Referências

REFERÊNCIAS

AKATA, M. D. P. D. T. General Anesthetics and Vascular Smooth Muscle Direct Actions of General Anesthetics on Cellular Mechanisms Regulating Vascular Tone. **Anesthesiology**, v. 106, n. 2, p. 365-391, 2007.

AKATA, M. D. P. D. T.; IZUMI, M. D. K.; NAKASHIMA, M. D. P. D. M. The Action of Sevoflurane on Vascular Smooth Muscle of Isolated Mesenteric Resistance Arteries (Part 2) Mechanisms of Endothelium-independent Vasorelaxation. **Anesthesiology**, v. 92, n. 5, p. 1441-1453, 2000.

ALDERTON, W. K.; COOPER, C. E.; KNOWLES, R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Biochemical Journal**, v. 357, n. 3, p. 593-615, 2001.

ALLAOUCHICHE, B. et al. Oxidative stress status during exposure to propofol, sevoflurane and desflurane. **Anesth Analg**, v. 93, n. 4, p. 981-5, Oct 2001.

ALLEVA, R. et al. Lymphocyte DNA damage precedes DNA repair or cell death after orthopaedic surgery under general anaesthesia. **Mutagenesis**, v. 18, n. 5, p. 423-8, Sep 2003.

BELKHIRI, A. et al. Increased expression of activated matrix metalloproteinase-2 by human endothelial cells after sublethal H₂O₂ exposure. **Lab Invest**, v. 77, n. 5, p. 533-9, Nov 1997.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996/07/15/ 1996.

BEZERRA, F. J. et al. Evaluation of antioxidant parameters in rats treated with sevoflurane. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 60, n. 2, p. 162-9, 93-7, Mar-Apr 2010.

BIRBEN, E. et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **The World Allergy Organization journal**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2012.

BLAISE, G. et al. Do enflurane and isoflurane interfere with the release, action, or stability of endothelium-derived relaxing factors? **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 44, n. 5, p. 550-558, May 01 1997.

BONNANS, C.; CHOU, J.; WERB, Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. **Nature reviews. Molecular cell biology**, v. 15, n. 12, p. 786-801, 2014.

BRETÓN-ROMERO, R.; LAMAS, S. Hydrogen peroxide signaling in vascular endothelial cells. **Redox biology**, v. 2, p. 529-534, 2014.

BROZOVIC, G. et al. Evaluation of DNA damage in vivo induced by combined application of cisplatin and sevoflurane. **Eur J Anaesthesiol**, v. 25, n. 8, p. 642-7, Aug 2008.

CAI, H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: Origins, mechanisms, and consequences. **Cardiovascular Research**, v. 68, n. 1, p. 26-36, 2005.

CAI, H.; HARRISON, D. G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circ Res**, v. 87, n. 10, p. 840-4, Nov 10 2000.

CAMPAGNA, J. A.; MILLER, K. W.; FORMAN, S. A. Mechanisms of Actions of Inhaled Anesthetics. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 21, p. 2110-2124, 2003.

CAPEY, S. Inhalation Anesthetics. In: ENNA, S. J. e BYLUND, D. B. (Ed.). **xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference**. New York: Elsevier, p.1-4, 2007.

CHANG, C. Y. et al. Ether in the developing world: rethinking an abandoned agent. **BMC anesthesiology**, v. 15, p. 149-149, 2015.

CHEN, Q. et al. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. **Mediators of inflammation**, v. 2013, p. 928315-928315, 2013.

CHENG, C.-R. Inflammatory Response to Anesthesia and Ways to Attenuate It. **Advances in Anesthesia**, v. 23, p. 107-141, 2005.

DĄBROWSKA, A. M.; SŁOTWIŃSKI, R. The immune response to surgery and infection. **Central-European journal of immunology**, v. 39, n. 4, p. 532-537, 2014.

DEMACQ, C. et al. Inverse relationship between markers of nitric oxide formation and plasma matrix metalloproteinase-9 levels in healthy volunteers. **Clin Chim Acta**, v. 394, n. 1-2, p. 72-6, Aug 2008.

DOLLERY, C. M.; MCEWAN, J. R.; HENNEY, A. M. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. **Circ Res**, v. 77, n. 5, p. 863-8, Nov 1995.

EBERHARDT, W. et al. Nitric oxide modulates expression of matrix metalloproteinase-9 in rat mesangial cells. **Kidney Int**, v. 57, n. 1, p. 59-69, Jan 2000.

ECKENHOFF, M. D. RODERIC G. et al. Inhaled Anesthetic Enhancement of Amyloid- β Oligomerization and Cytotoxicity. **Anesthesiology**, v. 101, n. 3, p. 703-709, 2004.

EGER EI. Characteristics of anesthetic agents used for induction and maintenance of general anesthesia. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 61, n. suppl 4, p. S3-S10, 2004.

EGER, M. D. EDMOND I. New Inhaled Anesthetics. **Anesthesiology**, v. 80, n. 4, p. 906-922, 1994.

EMING, S. A.; WYNN, T. A.; MARTIN, P. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. **Science**, v. 356, n. 6342, p. 1026-1030, 2017.

ENDEMANN, D. H.; SCHIFFRIN, E. L. Endothelial Dysfunction. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, n. 8, p. 1983-1992, 2004.

ERBAS, M. et al. [Comparison of effects on the oxidant/antioxidant system of sevoflurane, desflurane and propofol infusion during general anesthesia]. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 65, n. 1, p. 68-72, Jan-Feb 2015.

FORRESTER, S. J. et al. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. **Circ Res**, v. 122, n. 6, p. 877-902, Mar 16 2018.

FÖRSTERMANN, U.; SESSA, W. C. Nitric oxide synthases: regulation and function. **European heart journal**, v. 33, n. 7, p. 829-837d, 2012.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373, 11/27/online 1980.

GALIS, Z. S.; KHATRI, J. J. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. **Circ Res**, v. 90, n. 3, p. 251-62, Feb 22 2002.

GEURTS, N.; OPDENAKKER, G.; VAN DEN STEEN, P. E. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets in protozoan parasitic infections. **Pharmacol Ther**, v. 133, n. 3, p. 257-79, Mar 2012.

HIRATA, S. et al. Effects of isoflurane on receptor-operated Ca²⁺ channels in rat aortic smooth muscle. **Br J Anaesth**, v. 81, n. 4, p. 578-83, Oct 1998.

INCALZA, M. A. et al. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. **Vascular Pharmacology**, v. 100, p. 1-19, 2018/01/01/ 2018.

JALOSZYNSKI, P. et al. Genotoxicity of inhalation anesthetics halothane and isoflurane in human lymphocytes studied in vitro using the comet assay. **Mutat Res**, v. 439, n. 2, p. 199-206, Feb 19 1999.

JIAN LIU, K.; ROSENBERG, G. A. Matrix metalloproteinases and free radicals in cerebral ischemia. **Free Radic Biol Med**, v. 39, n. 1, p. 71-80, Jul 1 2005.

JIN, Y. et al. Effects of sevoflurane and propofol on the inflammatory response and pulmonary function of perioperative patients with one-lung ventilation. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 6, n. 3, p. 781-785, 2013. ISSN 1792-0981
1792-1015.

KARABıYıK, L. et al. Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 492, n. 1, p. 99-107, 2001/05/31/ 2001.

KARAKI, H.; URAKAWA, N.; KUTSKY, P. Potassium-induced contraction in smooth muscle. **Nihon Heikatsukin Gakkai Zasshi**, v. 20, n. 6, p. 427-44, Dec 1984.

KAZUMA, S. et al. Desflurane inhibits endothelium-dependent vasodilation more than sevoflurane with inhibition of endothelial nitric oxide synthase by different mechanisms. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 495, n. 1, p. 217-222, 2018/01/01/ 2018.

KHARASCH, E. D. Biotransformation of sevoflurane. **Anesth Analg**, v. 81, n. 6 Suppl, p. S27-38, Dec 1995.

KHAZAEI, M.; MOIEN-AFSHARI, F.; LAHER, I. Vascular endothelial function in health and diseases. **Pathophysiology**, v. 15, n. 1, p. 49-67, 2008.

KIM, H. et al. Oxidative damages in the DNA, lipids, and proteins of rats exposed to isofluranes and alcohols. **Toxicology**, v. 220, n. 2-3, p. 169-78, Mar 15 2006.

KUROSAWA, S.; KATO, M. Anesthetics, immune cells, and immune responses. **Journal of Anesthesia**, v. 22, n. 3, p. 263-277, August 01 2008.

KUROSAWA, S.; KATO, M. Anesthetics, immune cells, and immune responses. **J Anesth**, v. 22, n. 3, p. 263-77, 2008.

LEE, Y.-M.; SONG, B. C.; YEUM, K.-J. Impact of Volatile Anesthetics on Oxidative Stress and Inflammation. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 8, 2015.

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

LUCCHESI, P. A.; BELMADANI, S.; MATROUGUI, K. Hydrogen peroxide acts as both vasodilator and vasoconstrictor in the control of perfused mouse mesenteric resistance arteries. **J Hypertens**, v. 23, n. 3, p. 571-9, Mar 2005.

MARKOVIC-BOZIC, J. et al. Effect of propofol and sevoflurane on the inflammatory response of patients undergoing craniotomy. **BMC anesthesiology**, v. 16, p. 18-18, 2016.

MCBRIDE, W. T.; ARMSTRONG, M. A.; MCBRIDE, S. J. Immunomodulation: an important concept in modern anaesthesia. **Anaesthesia**, v. 51, n. 5, p. 465-473, 1996. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2044.1996.tb07793.x> >.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428, 07/23/online 2008.

MESCHIARI, C. A. et al. Nitric oxide attenuates matrix metalloproteinase-9 production by endothelial cells independent of cGMP- or NFkappaB-mediated mechanisms. **Mol Cell Biochem**, v. 378, n. 1-2, p. 127-35, Jun 2013.

METZGER, I. F.; SANDRIM, V. C.; TANUS-SANTOS, J. E. Endogenous nitric oxide formation correlates negatively with circulating matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 levels in black subjects. **Mol Cell Biochem**, v. 360, n. 1-2, p. 393-9, Jan 2012.

MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. A. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. **Nitric Oxide**, v. 5, n. 1, p. 62-71, 2001/02/01/ 2001.

MITSUHATA, H.; SHIMIZU, R.; YOKOYAMA, M. M. Suppressive effects of volatile anesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 17, n. 6, p. 529-534, 1995/06/01/ 1995.

MONCADA, S.; HIGGS, A. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. **New England Journal of Medicine**, v. 329, n. 27, p. 2002-2012, 1993.

MONCADA, S.; PALMER, R. M.; HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacological Reviews**, v. 43, n. 2, p. 109-142, 1991.

MÜLLER-EDENBORN, M. D. B. et al. Volatile Anesthetics Reduce Invasion of Colorectal Cancer Cells through Down-regulation of Matrix Metalloproteinase-9. **Anesthesiology**, v. 117, n. 2, p. 293-301, 2012.

NAGASE, H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. **Biol Chem**, v. 378, n. 3-4, p. 151-60, Mar-Apr 1997.

NAKAMURA, K. et al. Mechanisms of inhibition of endothelium-dependent relaxation by halothane, isoflurane, and sevoflurane. **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 41, n. 4, p. 340-346, April 01 1994.

NASCIMENTO, R. A. et al. Hypertension, augmented activity of matrix metalloproteinases-2 and -9 and angiogenic imbalance in hypertensive pregnancy are attenuated by doxycycline. **Eur J Pharmacol**, v. 840, p. 60-69, Oct 15 2018.

NI, C. et al. Anesthetic Isoflurane Induces DNA Damage Through Oxidative Stress and p53 Pathway. **Molecular neurobiology**, v. 54, n. 5, p. 3591-3605, 2017

OHBAYASHI, H. Matrix metalloproteinases in lung diseases. **Curr Protein Pept Sci**, v. 3, n. 4, p. 409-21, Aug 2002.

PALMER, R. M. J. et al. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 153, n. 3, p. 1251-1256, 1988/06/30/ 1988.

PERICO, L. L. et al. Does the gastroprotective action of a medicinal plant ensure healing effects? An integrative study of the biological effects of *Serjania marginata* Casar. (Sapindaceae) in rats. **J Ethnopharmacol**, v. 172, p. 312-24, Aug 22 2015.

POSSOMATO-VIEIRA, J. S. et al. Increases in placental nitric oxide, but not nitric oxide-mediated relaxation, underlie the improvement in placental efficiency and antihypertensive effects of hydrogen sulphide donor in hypertensive pregnancy. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 45, n. 11, p. 1118-1127, 2018.

RATZ, P. H. et al. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 288, n. 4, p. C769-C783, 2005.

RIZZI, E. et al. Temporal changes in cardiac matrix metalloproteinase activity, oxidative stress, and TGF- β in renovascular hypertension-induced cardiac

hypertrophy. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 94, n. 1, p. 1-9, 2013/02/01/ 2013.

ROCHA, T. L. A. et al. Sevoflurane Induces DNA Damage Whereas Isoflurane Leads to Higher Antioxidative Status in Anesthetized Rats. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 6, 2015.

SAMARSKA, M. D. IRYNA V. et al. Adjunct Nitrous Oxide Normalizes Vascular Reactivity Changes after Hemorrhagic Shock in Mice under Isoflurane Anesthesia. **Anesthesiology**, v. 111, n. 3, p. 600-608, 2009.

SANDOO, A. et al. The endothelium and its role in regulating vascular tone. **The open cardiovascular medicine journal**, v. 4, p. 302-312, 2010.

SATO, N.; FUJII, K.; YUGE, O. In vivo and in vitro sevoflurane-induced lipid peroxidation in guinea-pig liver microsomes. **Pharmacol Toxicol**, v. 75, n. 6, p. 366-70, Dec 1994.

SCHIEBER, M.; CHANDEL, NAVDEEP S. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. **Current Biology**, v. 24, n. 10, p. R453-R462, 2014/05/19/ 2014.

SEN, C. K.; PACKER, L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. **FASEB J**, v. 10, n. 7, p. 709-20, May 1996.

SILVA, B. R. et al. Hydrogen peroxide modulates phenylephrine-induced contractile response in renal hypertensive rat aorta. **Eur J Pharmacol**, v. 721, n. 1-3, p. 193-200, Dec 5 2013.

SOSA, V. et al. Oxidative stress and cancer: An overview. **Ageing Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 376-390, 2013/01/01/ 2013.

SPINALE, F. G. Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. **Physiol Rev**, v. 87, n. 4, p. 1285-342, Oct 2007.

SPINALE, F. G. et al. Myocardial matrix degradation and metalloproteinase activation in the failing heart: a potential therapeutic target. **Cardiovasc Res**, v. 46, n. 2, p. 225-38, May 2000.

STACHNIK, J. Inhaled anesthetic agents. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 63, n. 7, p. 623-634, 2006.

STOLLINGS, L. M. et al. Immune Modulation by Volatile Anesthetics. **Anesthesiology**, v. 125, n. 2, p. 399-411, 2016.

TANIYAMA, Y.; GRIENGLING, K. K. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. **Hypertension**, v. 42, n. 6, p. 1075-81, Dec 2003.

TODA, H. et al. Halothane and isoflurane inhibit endothelium-dependent relaxation elicited by acetylcholine. **Anesth Analg**, v. 75, n. 2, p. 198-203, Aug 1992.

TODA, M. D. P. D. N.; TODA, M. D. P. D. H.; HATANO, M. D. P. D. Y. Nitric Oxide Involvement in the Effects of Anesthetic Agents. **Anesthesiology**, v. 107, n. 5, p. 822-842, 2007.

TÜRKAN, H. et al. Oxidative and Antioxidative Effects of Desflurane and Sevoflurane on Rat Tissue in Vivo. v. 62, n. 2, p. 113, 2011.

UTTARA, B. et al. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. **Current neuropharmacology**, v. 7, n. 1, p. 65-74, 2009.

VALLANCE, P.; CHAN, N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. **Heart**, v. 85, n. 3, p. 342-350, 2001.

VANHOUTTE, P. M. et al. Endothelial dysfunction and vascular disease – a 30th anniversary update. **Acta Physiologica**, v. 219, n. 1, p. 22-96, 2017.

VISSE, R.; NAGASE, H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. **Circ Res**, v. 92, n. 8, p. 827-39, May 2003.

WOESSNER, J. F., JR. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. **FASEB J**, v. 5, n. 8, p. 2145-54, May 1991.

WONG, C. H. et al. Sevoflurane-induced oxidative stress and cellular injury in human peripheral polymorphonuclear neutrophils. **Food Chem Toxicol**, v. 44, n. 8, p. 1399-407, Aug 2006.

XU, S.; TOUYZ, R. M. Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: still alive. **The Canadian journal of cardiology**, v. 22, n. 11, p. 947-951, 2006

YAMAGUCHI, A.; OKABE, E. Effect of sevoflurane on the vascular reactivity of rabbit mesenteric artery. **Br J Anaesth**, v. 74, n. 5, p. 576-82, May 1995.

YOSHIDA, K.; OKABE, E. Selective impairment of endothelium-dependent relaxation by sevoflurane: oxygen free radicals participation. **Anesthesiology**, v. 76, n. 3, p. 440-7, Mar 1992. ISSN 0003-3022