

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/07/2025.



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

Maria Vitória Destro

**Potencial genotóxico e mutagênico da exposição ao
sevoflurano em camundongos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Anestesiologia, na área de Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Gobbo Braz
Coorientador: Prof. Associado Leandro Gobbo Braz

**Botucatu
2024**

Maria Vitória Destro

Potencial genotóxico e mutagênico da exposição ao
sevoflurano em camundongos

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestra em Anestesiologia, na área
de Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Gobbo Braz
Coorientador: Prof. Associado Leandro Gobbo Braz

Botucatu
2024

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

Destro, Maria Vitória.

Potencial genotóxico e mutagênico da exposição ao sevoflurano em camundongos / Maria Vitória Destro. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Mariana Gobbo Braz

Coorientador: Leandro Gobbo Braz

Capes: 40102130

1. Anestésicos inalatórios. 2. Anestesia geral. 3. Camundongos. 4. Ensaio cometa.

Palavras-chave: Anestésicos inalatórios; Anestesia geral; Camundongos; Ensaio do cometa; Teste do micronúcleo.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MARIA VITÓRIA DESTRO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANESTESIOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA.

Aos 29 dias do mês de julho do ano de 2024, às 14:00 horas, no(a) Via sistemas de videoconferência e outras ferramentas para comunicação a distância (Google Meet), realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MARIA VITÓRIA DESTRO, intitulada **Potencial genotóxico e mutagênico da exposição ao sevoflurano em camundongos**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. MARIANA GOBBO BRAZ (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Depto. de Especialidades Cirúrgicas e Anestesiologia / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. LÍLIAN CRISTINA PEREIRA (Participação Virtual) do(a) Depto. de Bioprocessos e Biotecnologia / FCA/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. DANIEL ARAKI RIBEIRO (Participação Virtual) do(a) Depto. de Biociências / Universidade Federal de São Paulo - Santos/SP. Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Profa. Dra. MARIANA GOBBO BRAZ

Documento assinado digitalmente
 MARIANA GOBBO BRAZ
 Data: 29/07/2024 17:34:37-0300
 Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dedicatória

Com profunda gratidão, dedico este trabalho a Deus, expressando minha apreciação por todas as pessoas e oportunidades que Ele colocou em meu caminho. Reconheço Sua orientação constante, que iluminou meus passos e me guiou em todas as situações.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais volta ao seu tamanho original”

Albert Einstein

À minha mãe, Inês Aparecida Russo, a mulher incrível que moldou minha vida. Sua presença é o alicerce do meu ser, e seu amor é a luz que ilumina meu caminho. Agradeço por sua presença única e por ser a personificação do amor incondicional em minha jornada.

“De todo o amor que eu tenho
Metade foi tu que me deu
Salvando minha alma da vida
Sorrindo e fazendo o meu eu”
Maria Gadu, Dona Cila

Para o meu irmão, Tiago Roberto Destro, quem sempre incentivou cada passo do meu caminho. Seu apoio inabalável é uma luz constante na minha jornada. Agradeço por você, meu irmão, por trazer essa beleza à minha vida e por me mostrar a importância de seguir os sonhos com o coração. Seu estímulo é a faísca que acende meu potencial.

“Nunca alguém tão grande se fez tão pequeno para tornar grandes os pequenos”

Augusto Cury

Ao meu noivo, Michael Viana, que trouxe luz, amor e risos para cada capítulo da nossa história. Com gratidão, dedico este momento a nós dois, celebrando o amor que construímos juntos. Obrigado por amar todas as facetas de quem sou e por tornar cada momento da nossa vida significativo.

“A suprema felicidade da vida é a convicção de ser amado por aquilo que você é, ou melhor, apesar daquilo que você é”

Victor Hugo

Agradecimento especial

À Doutora Mariana Gobbo Braz,

Reconheço que, com sua orientação, pude crescer profissionalmente e adquirir habilidades valiosas que certamente serão úteis em minha carreira futura. Sou grata por ter tido a oportunidade de aprender com você e me beneficiar da sua vasta experiência.

“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

Agradecimento especial

Ao Doutor Leandro Gobbo Braz,

Agradeço especialmente pela sua disponibilidade em acompanhar cada etapa deste projeto e por estar sempre pronto a esclarecer dúvidas e oferecer dicas valiosas.

“A persistência é o caminho do êxito.”

Charles Chaplin

Agradecimento especial

Aos animais,

Agradeço sinceramente a todos os animais que contribuíram para o nosso experimento. Reconheço a sua importância vital na busca do conhecimento e avanço científico. Cada ser vivo desempenhou um papel significativo, e sua participação não passa despercebida.

“Foste um instrumento de nosso aprendizado? Foste apenas um objeto de experiência?

Não!

Foste para nós, vítimas solicitadas pela ciência, para benefício da humanidade, porém, apesar do teu olhar mudo e de não teres a permissão da palavra, isso não nos impedirá de dizer-te sempre: Muito obrigado”

(Desconhecido)

Agradecimentos

Expresso minha gratidão a Deus pela constante proteção e orientação ao longo desta jornada. Reconheço os presentes maravilhosos que foram concedidos durante a minha trajetória nesta vida.

Estou convicta de que a conclusão deste trabalho não seria possível sem a valiosa contribuição de uma rede diversificada de indivíduos, cujas influências e apoios permitiram o crescimento e a realização deste projeto. Nesse sentido, expresso meu sincero agradecimento a todas as pessoas, circunstâncias e eventos que, de alguma maneira, pavimentaram o caminho que me trouxe até aqui.

À minha mãe incrível, que não apenas torceu por meus sonhos, mas também acreditou na minha força quando nem eu mesmo conseguia, e confiou nas minhas escolhas, mesmo sofrendo com a distância que nos separa. Meu amor por você ultrapassa qualquer medida.

Ao meu amado irmão, mentor incansável que me guiou na arte da persistência, assumindo o papel de uma figura paternal que me protegeu de todos os males imagináveis. Seu apoio constante e incentivo moldaram esta fase da minha vida.

À minha orientadora, professora Mariana Gobbo Braz, por sua orientação, dedicação e sabedoria compartilhada foram fundamentais para a realização desta dissertação. Sou imensamente grata pela oportunidade de aprender e crescer sob sua orientação, moldando não apenas meu trabalho acadêmico, mas também meu percurso como estudante e profissional.

Ao meu coorientador Leandro Gobbo Braz quero expressar minha gratidão por sua orientação, apoio e comprometimento, pois foram fundamentais para o sucesso desta jornada acadêmica. Agradeço por partilhar conhecimento e por contribuir significativamente para o enriquecimento deste trabalho. Sua influência foi crucial, moldando não apenas o desenvolvimento desta pesquisa, mas também a minha trajetória como estudante.

Aos meus incríveis amigos de laboratório GENOTOX, Mariane Aparecida Pereira Santos e Tony Fernando Grassi, que tornaram cada experimento e desafio passados juntos uma jornada memorável. Sua colaboração, amizade, paciência e espírito de equipe foram fundamentais para o sucesso deste projeto. Agradeço por cada risada compartilhada, por cada obstáculo superado em conjunto e por transformar o laboratório em um lugar onde aprendemos, crescemos e celebramos conquistas juntos. Este é o fruto de nossa colaboração e amizade duradoura.

A todos os docentes que lecionaram as disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) por todo o empenho na formação de profissionais de excelência.

Aos membros participantes da banca de qualificação e defesa: Daisy Maria Fávero Salvadori, Luis Fernando Barbisan, Daniel Araki Ribeiro e Lilian Cristina Pereira, juntamente com minha orientadora: Mariana Gobbo Braz. Agradeço por aceitarem o convite e por toda contribuição dada a esse trabalho.

A todos os funcionários da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) e Unidade de Pesquisa e Experimentação Animal (UPEA) da FMB-UNESP pelo acolhimento e assistência que me deram para que o projeto pudesse ser realizado.

Às secretárias Tatiane de Fátima Pineiz Biondo e Márcia Fonseca Piagentini Cruz, pela paciência e orientação quanto às normas do Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da FMB-UNESP.

À secretária Joana Jacirene Costa Teixeira e ao secretário André Renato Passaroni do Departamento de Especialidades Cirúrgicas e Anestesiologia pelas reservas de sala e auxílios técnicos.

À Rosangela Aparecida Lobo, bibliotecária responsável pela confecção da ficha catalográfica.

Ao veterinário Diego Generoso, que sempre compartilhou seu conhecimento, ofereceu apoio e forneceu orientações essenciais sobre as necessidades vitais dos animais, visando minimizar qualquer desconforto.

Ao grupo de pesquisa OMICS, quero expressar minha gratidão especial à Amanda R. Tanamachi, Kamila S. Leme e à orientadora do grupo, Daisy M.F. Salvadori. Agradeço pela paciência e pelos valiosos ensinamentos da técnica do micronúcleo, desde dicas preciosas até os momentos críticos de análise. Além disso, sou grata pelas palavras de conforto que me foram oferecidas ao longo dessa jornada. A colaboração e o apoio de todos foram indispensáveis para o sucesso desta pesquisa.

Ao Guilherme Romualdo por opinar em várias discussões durante a elaboração desta pesquisa e auxiliar em diversos pontos técnicos.

À profa Lídia Raquel de Carvalho, do Departamento de Bioestatística (UNESP), por toda paciência e excelência durante o processo de análise estatística.

À agência de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de auxílio financeiro (processo nº 2022/10697-8) que viabilizou a execução deste trabalho.

À agência de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de Mestrado concedida (processo nº 88887.704623/2022-00).

Epígrafe

“Não tente pular as fases que você tem vivido, mesmo que sejam difíceis e, às vezes, de apertarem o coração, porque são elas que irão ensinar lições importantes, são elas que irão te fortalecer.”

Laureane Antunes

Resumo

Destro, MV. Potencial genotóxico e mutagênico da exposição ao sevoflurano em camundongos [Dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista - UNESP; 2024. 34 f.

O sevoflurano, um anestésico inalatório halogenado, é amplamente utilizado na prática clínica para indução e/ou manutenção da anestesia geral. Contudo, pouco se sabe sobre seu potencial tóxico visto que em pesquisas clínicas as avaliações são realizadas sem que haja dissociação dos efeitos da anestesia em relação aos da cirurgia. Considerando esta importante lacuna existente na literatura e que até o momento nenhum estudo avaliou possíveis danos no ácido desoxirribonucleico (DNA) em roedores expostos ao sevoflurano seguindo as diretrizes da *The Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD), o presente estudo avaliou o efeito isolado da exposição aguda ao sevoflurano. Portanto, investigou-se, pela primeira vez, a genotoxicidade em células de sangue periférico e em órgãos-alvo (fígado, pulmão e rim) e a mutagenicidade em medula óssea de uma única exposição ao sevoflurano em três concentrações diferentes em camundongos monitorizados. Noventa camundongos *Swiss* machos foram distribuídos nos seguintes grupos: expostos ao sevoflurano a 3,3% (menor concentração), 4,5% (concentração intermediária) e 6,0% (concentração mais alta - máxima tolerada) com 40% de oxigênio (O₂) por 2 h, controle negativo (sem exposição), controle negativo com O₂ e controle positivo (etil metano sulfonato). Os animais expostos foram aquecidos, monitorizados quanto aos sinais vitais (temperatura, saturação de O₂, frequência cardíaca/pulso e frequência respiratória) e anestesiados por meio de um moderno sistema digital de baixo fluxo (tendência mundial em anestesiologia; ≤ 1 l/min). Os camundongos foram eutanasiados após 2 h e 24 h da exposição, para avaliação do teste do cometa (sangue, fígado, pulmão e rim) e teste do micronúcleo (MN) em células da medula óssea, respectivamente. Não houve indução de danos no DNA no grupo de 3,3% para todos os órgãos avaliados, e nenhum efeito genotóxico ou mutagênico foi observado, para todas as concentrações de sevoflurano, em células hepáticas ou do sangue periférico. No entanto, aumento significativo nos danos no DNA foi observado nos rins (4,5%), células pulmonares (6,0%) e na frequência de MN (4,5% e 6,0%). Não foram observadas citotoxicidade ou alterações histológicas. Em conclusão, concentrações mais elevadas de sevoflurano foram capazes de induzir danos no material genético enquanto a concentração equivalente à utilizada na prática clínica não demonstrou efeito genotóxico nem mutagênico, o que é relevante para a segurança do paciente durante a anestesia.

Palavras-chave: Anestesia geral, Ensaio Cometa, Teste de Micronúcleo

Sumário

Dedicatória	5
Agradecimento especial	6
Agradecimentos	9
Epígrafe	11
Resumo	12
Manuscrito	
Abstract	14
1. Introduction	15
2. Materials and methods	16
2.1 Chemicals	16
2.2 Animals and experimental design	17
2.3 Sampling and biological collection	20
2.4 Comet assay	20
2.5 Micronucleus test	21
2.6 Histopathological evaluation	21
2.7 Statistical analysis	22
3. Results	22
4. Discussion	25
Acknowledgments	30
References	30
Anexo	34

REFERENCES

- Alleva, R., Tomasetti, M., Solenghi, M.D., Stagni, F., Gamberini, F., Bassi, A., et al. (2003) DNA damage precedes DNA repair or cell death after orthopaedic surgery under general anaesthesia. *Mutagenesis*, 18, 423-428. doi: 10.1093/mutage/geg013
- Apai, C., Shah, R., Tran, K., Pandya Shah, S. (2021) Anesthesia and the developing brain: a review of sevoflurane-induced neurotoxicity in pediatric populations. *Clinical Therapeutics*, 43, 762-778. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2021.01.024>

- Benković, V., Borojević, N., Šikić, D., Horvat Knežević, A., Milić, M. (2021) DNA damage assessment in peripheral blood of Swiss albino mice after combined exposure to volatile anesthetics and 1 or 2 Gy radiotherapy *in vivo*. *International Journal of Radiation Biology*, 97, 1425-1435. <https://doi.org/10.1080/09553002.2021.1962565>
- Benković, V., Oršolić, N., Knežević, A.H., Borojević, N., Brozović, G., Milić, M. (2022) Kidney cell DNA damage caused by combined exposure to volatile anaesthetics and 1 Gy or 2 Gy radiotherapy dose *in vivo*. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 73, 62-70. <https://doi.org/10.2478/aiht-2022-73-3600>
- Benković, V., Milić, M., Oršolić, N., Knežević, A.H., Brozović, G., Borojević, N. (2023a) Lymphocyte Different damaging effects of volatile anaesthetics alone or in combination with 1 and 2 Gy gamma-irradiation *in vivo* on mouse liver DNA: a preliminary study. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 74, 22-33. <https://doi.org/10.2478/aiht-2023-74-3692>
- Benković, V., Milić, M., Oršolić, N., Horvat Knežević, A., Brozović, G., Borojević, N. (2023b) Brain DNA damaging effects of volatile anesthetics and 1 and 2 Gy gamma irradiation *in vivo*: Preliminary results. *Toxicology and Industrial Health*, 39, 67-80. <https://doi.org/10.1177/07482337221145599>
- Braz, M.G., Braz, L.G., Barbosa, B.S., Giacobino, J., Orosz, J. E., Salvadori, D.M., et al. (2011a) DNA damage in patients who underwent minimally invasive surgery under inhalation or intravenous anesthesia. *Mutation Research*, 726, 251-254. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.09.007>
- Braz, M.G., Mazoti, M.Á., Giacobino, J., Braz, L.G., Golim, M. de A., Ferrasi, A.C., et al. (2011b) Genotoxicity, cytotoxicity and gene expression in patients undergoing elective surgery under isoflurane anaesthesia. *Mutagenesis*, 26, 415-420. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq109>
- Braz M.G., Silva M.A.P., Scorza C.E., Lara J.R., Braz J.R.C., Braz L.G. (2024) Comparison between inhalational anesthetics in terms of DNA damage and immunological markers. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 65, 137-142. <https://doi.org/10.1002/em.22600>
- Brozović, G., Orsolic, N., Rozgaj, R., Kasuba, V., Knezevic, F., Knezevic, A.H., et al. (2010) DNA damage and repair after exposure to sevoflurane *in vivo*, evaluated in Swiss albino mice by the alkaline comet assay and micronucleus test. *Journal of Applied Genetics*, 51, 79-86. <https://doi.org/10.1007/BF03195714>
- Brozović, G., Oršolić, N., Rozgaj, R., Knežević, F., Knežević, A.H., Maričić, M., et al. (2017) Sevoflurane and isoflurane genotoxicity in kidney cells of mice. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 68, 228-235. <https://doi.org/10.1515/aiht-2017-68-2941>
- Brunborg, G., Collins, A. (2020) Guidance for publishing comet assay results. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 854-855, 503146. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2020.503146>
- Chen, Y., Liu, X., Cheng, C.H., Gin, T., Leslie, K., Myles, P., et al. (2013) Leukocyte DNA damage and wound infection after nitrous oxide administration: a randomized controlled trial. *Anesthesiology*, 118, 1322-1331. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31829107b8>
- Conzen, P.F., Vollmar, B., Habazettl, H., Frink, E.J., Peter, K., Messmer, K. (1992) Systemic and regional hemodynamics of isoflurane and sevoflurane in rats. *Anesthesia and Analgesia*, 74, 79-88. <https://doi.org/10.1213/00000539-199201000-00014>
- Dahan, A., Sarton, E., Teppema, L., Olivevier, C., Nieuwenhuijs, D., Matthes, H.W., et al. (2001) Anesthetic potency and influence of morphine and sevoflurane on respiration in mu-opioid receptor knockout mice. *Anesthesiology*, 94, 824-832. <https://doi.org/10.1097/00000542-200105000-00021>
- Fernandes, F.H., Botasso-Nasciutti, M.O., Svio, A.L.V., Souza, L.D.C.M., Fernandes-Cal, J.R., Cardoso, F.F., et al. (2018) In Vivo genotoxicity of a commercial C.I. Disperse Red 1 dye. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 59, 822-828. <https://doi.org/10.1002/em.22226>
- Forman, S.A., Ishizawa, Y. (2015) Inhaled anaesthetic pharmacokinetics: uptake, distribution, metabolism and toxicity. In Miller, R.D. (ed.), *Miller's Anaesthesia*. 8th ed. Elsevier, Philadelphia, PA, USA, pp. 656-662.
- Foster, K.A., Oster, C.G., Mayer, M.M., Avery, M.L., Audus, K.L. (1998) Characterization of the A549 cell line as a type II pulmonary epithelial cell model for drug metabolism. *Experimental Cell Research*, 243, 359-366. <https://doi.org/10.1006/excr.1998.4172>
- Frazier, K.S., Seely, J.C., Hard, G.C., Betton, G., Burnett, R., Nakatsuji, S., et al. (2012) Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse urinary system. *Toxicologic Pathology*, 40, 14S-86S. <https://doi.org/10.1177/0192623312438736>

- Holmer, H., Bekele, A., Hagander, L., Harrison, E.M., Kamali, P., Ng-Kamstra, J.S., et al. (2019) Evaluating the collection, comparability and findings of six global surgery indicators. *The British Journal of Surgery*, 106, e138-e150. <https://doi.org/10.1002/bjs.11061>
- Huang, X., Ying, J., Yang, D., Fang, P., Wang, X., Zhou, B., et al. (2021) The mechanisms of sevoflurane-induced neuroinflammation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13, 717-745. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.717745>
- Jaloszynski, P., Kujawski, M., Wasowicz, M., Szulc, R., Szyfter, K. (1999) Genotoxicity of inhalation anesthetics halothane and isoflurane in human lymphocytes studied in vitro using the comet assay. *Mutation Research*, 439, 199-206. <https://doi.org/10.1016/s1383-57189800195-8>
- Kadioglu, E., Sardas, S., Erturk, S., Ozatamer, O., Karakaya, A.E. (2009) Determination of DNA damage by alkaline halo and comet assay in patients under sevoflurane anesthesia. *Toxicology and Industrial Health*, 25, 205-212. <https://doi.org/10.1177/0748233709106445>
- Karabiyik, L., Sardaş, S., Polat, U., Kocabaş, N.A., Karakaya, A.E. (2001) Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay. *Mutation Research*, 492, 99-107. [https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(01\)00159-0](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(01)00159-0)
- Kaymak, C., Kadioglu, E., Basar, H., Sardas, S. (2004) Genoprotective role of vitamin E and selenium in rabbits anaesthetized with sevoflurane. *Human & Experimental Toxicology*, 23, 413-419. <https://doi.org/10.1191/0960327104ht463oa>
- Kent Scientific. SomnoSuite® Low-flow anesthesia system
<https://www.kentscientific.com/products/somnosuite/>
- Kesimci, E., Coşkun, E., Uğur, G., Müderris, T., İzdeş, S., Karahalil, B. (2017) Can sevoflurane induce micronuclei formation in nasal epithelial cells of adult patients? *Turkish Journal of Anaesthesiology and Reanimation*, 45, 264-269. <https://doi.org/10.5152/TJAR.2017.09475>
- Kharasch, E.D., Hankins, D.C., Thummel, K.E. (1995) Human kidney methoxyflurane and sevoflurane metabolism. Intrarenal fluoride production as a possible mechanism of methoxyflurane nephrotoxicity. *Anesthesiology*, 82, 689-699. <https://doi.org/10.1097/00000542-199503000-00011>
- Kvolik, S., Glavas-Obrovac, L., Bares, V., Karner I. (2005) Effects of inhalation anesthetics halothane, sevoflurane, and isoflurane on human cell lines. *Life Sciences*, 77, 2369-2383. doi: 10.1016/j.lfs.2004.12.052.
- MacGregor, J.T., Heddle, J.A., Hite, M., Margolin, B.H., Ramel, C., Salamone, M.F., et al. (1987) Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutation Research*, 189, 103-112. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(87\)90016-4](https://doi.org/10.1016/0165-1218(87)90016-4)
- Merkel G., Eger EI II. (1963) A comparative study of halothane and halopropane anesthesia: including method for determining equipotency. *Anesthesiology*, 24, 346-357. <https://doi.org/10.1097/00000542-196305000-00016>
- Møller, P., Azqueta, A., Boutet-Robinet, E., Koppen, G., Bonassi, S., Milić, et al. (2020) Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results. *Nature Protocols*, 15, 3817-3826. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0398-1>
- Odeh, D., Oršolić, N., Adrović, E., Gaćina, L., Perić, P., Odeh, S., et al. (2022) Effects of volatile anaesthetics and iron dextran on chronic inflammation and antioxidant defense system in rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11, 708. <https://doi.org/10.3390/antiox11040708>
- OECD (2016), Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264762-en>.
- OECD (2016), Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264885-en>.
- OECD (2018), Test No. 433: Acute Inhalation Toxicity: Fixed Concentration Procedure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264284166-en>.
- Oliveira, R.G., Correia, P.M.M., Silva, A.L.M., Encarnação, P.M.C.C., Ribeiro, F.M., Castro, I.F., et al. (2022) Development of a new integrated system for vital sign monitoring in small animals. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 22, 4264. <https://doi.org/10.3390/s22114264>
- Orhan, H., Commandeur, J.N., Sahin, G., Aypar, U., Sahin, A., Vermeulen, N.P. (2004) Use of 19F-nuclear magnetic resonance and gas chromatography-electron capture detection in the quantitative

- analysis of fluorine-containing metabolites in urine of sevoflurane-anaesthetized patients. *Xenobiotica*, 34, 301-316. <https://doi.org/10.1080/716494157>
- Orosz, J.E., Braz, L.G., Ferreira, A.L., Amorim, R.B., Salvadori, D.M., Yeum, K.J., et al. (2014) Balanced anesthesia with sevoflurane does not alter redox status in patients undergoing surgical procedures. *Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 773, 29-33. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.07.007>
- Park, J.T., Lee, Y.B., Kim, J.S., Ryu, H., Lim, H.K. (2009) Acute liver injury after sevoflurane anesthesia: A case report. *Korean Journal of Anesthesiology*, 57, 221-224. <https://doi.org/10.4097/kjae.2009.57.2.221>
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M.T., Baker, M., et al. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Plos Biology*, 18, e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
- Recio, L., Hobbs, C., Caspary, W., Witt, K.L. (2010) Dose-response assessment of four genotoxic chemicals in a combined mouse and rat micronucleus (MN) and comet assay protocol. *The Journal of Toxicological Sciences*, 35, 149-162. <https://doi.org/10.2131/jts.35.149>
- Rocha, T.L., Dias-Junior, C.A., Possomato-Vieira, J.S., Gonçalves-Rizzi, V.H., Nogueira, F.R., de Souza, K.M., et al. (2015) Sevoflurane induces DNA damage whereas isoflurane leads to higher antioxidative status in anesthetized rats. *BioMed Research International*, 2015, 264971. <https://doi.org/10.1155/2015/264971>
- Rodrigues Tanamachi, A., Fernandes, F.H., de Souza Vendemiatti, J.A., Prediger, P., Camparotto, N.G., Sousa Rocha, N., et al. (2021) Mutagenicity of a novel 2-phenylbenzotriazole (non-chlorinated 2-phenylbenzotriazole-9) in mice. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 62, 471-477. <https://doi.org/10.1002/em.22463>
- Rooke, G.A., Choi, J.H., Bishop, M.J. (1997) The effect of isoflurane, halothane, sevoflurane, and thiopental/nitrous oxide on respiratory system resistance after tracheal intubation. *Anesthesiology*, 86, 1294-1299. <https://doi.org/10.1097/00000542-199706000-00010>
- Silva, M.A.P., Braz, L.G., Braz, J.R.C., Braz, M.G. (2023) Modulation of gene expression and inflammation but not DNA damage after sevoflurane anesthesia. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 64, 315-320. <https://doi.org/10.1002/em.22539>
- Suzuki, A., Katoh, T., Ikeda, K. (1998) The effect of adenosine triphosphate on sevoflurane requirements for minimum alveolar anesthetic concentration and minimum alveolar anesthetic concentration awake. *Anesthesia and Analgesia*, 86: 179-183. <https://doi.org/10.1097/00000539-199801000-00035>
- Thoolen, B., Maronpot, R.R., Harada, T., Nyska, A., Rousseaux, C., Nolte, T., et al. (2010) Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. *Toxicologic Pathology*, 38: 5S-81S. <https://doi.org/10.1177/0192623310386499>
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., et al. (2000) Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35, 206-221. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2280\(2000\)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j)
- Wei, G.H., Zhang, J., Liao, D.Q., Li, Z., Yang, J., Luo, N.F., et al. (2014) The common anesthetic, sevoflurane, induces apoptosis in A549 lung alveolar epithelial cells. *Molecular Medicine Reports*, 9, 197-203. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1806>
- Zimin, P.I., Woods, C.B., Kayser, E.B., Ramirez, J.M., Morgan, P.G., Sedensky, M.M. (2018) Isoflurane disrupts excitatory neurotransmitter dynamics via inhibition of mitochondrial complex I. *British Journal of Anaesthesia*, 120, 1019-1032. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2018.01.036>