

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 30/07/2028.



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

Mariane Aparecida Pereira Silva

**Avaliação toxicogenética, oxidativa e ômica da
exposição ao sevoflurano: estudo experimental**

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

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Gobbo Braz
Co-orientador: Prof. Associado Leandro Gobbo Braz

Mariane Aparecida Pereira Silva

Avaliação toxicogenética, oxidativa e ômica da
exposição ao sevoflurano: estudo experimental

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

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

Botucatu
2026

S586a

Silva, Mariane Aparecida Pereira

Avaliação toxicogenética, oxidativa e ômica da exposição ao sevoflurano: estudo experimental / Mariane Aparecida Pereira Silva.
-- Botucatu, 2026

141 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientador: Mariana Gobbo Braz

Coorientador: Leandro Gobbo Braz

1. Sevoflurano. 2. Genotoxicidade. 3. Estresse oxidativo. 4.
Expressão gênica. 5. Metabolômica. I. Título.

Mariane Aparecida Pereira Silva

Avaliação toxicogenética, oxidativa, inflamatória e ômica da exposição ao sevoflurano: estudo experimental

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

Área de Concentração: Ciências da Saúde

Data da defesa: 30/07/2026

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Mariana Gobbo Braz

Programa de Pós-graduação em Anestesiologia, Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP)

Prof. Dr. Marcos Ferreira Minicucci

Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP)

Prof. Dr. Marco Aurélio Marangoni

Programa de Pós-graduação em Anestesiologia, Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP)

Profa. Dra. Maria Lucia Zaidan Dagli

Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

Prof. Dr. Frank Silva Bezerra

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

Dedicatória

A Deus, agradeço pelas oportunidades, pelas pessoas que colocou em meu caminho e pela força que me sustentou em cada etapa desta jornada. A Ele sou grata pelos momentos de alegria, pelos desafios que me fizeram crescer e pelo amparo silencioso nos dias em que seguir em frente parecia mais difícil. Mais do que ninguém, Ele colocou em meu caminho exatamente aquilo de que eu precisava, no tempo certo e da forma necessária.

Confesso que demorei para escrever esta dedicatória. Talvez porque o título de doutora seja único, mas jamais individual. Ele é compartilhado com todas as pessoas que fizeram parte desta caminhada e que contribuíram para que eu me tornasse alguém melhor, não apenas na academia, mas também na escola da vida.

Serei a primeira pessoa da minha família a concluir um doutorado. Essa conquista, contudo, começou muito antes de mim. Ela foi construída pelas renúncias dos meus avós e dos meus pais, que trabalharam e sonharam para que eu tivesse a base necessária e o privilégio de dedicar-me aos estudos. Nos momentos mais difíceis e também nos mais felizes, eles estiveram ao meu lado. Foi por meio deles que aprendi que nenhuma conquista é verdadeiramente solitária.

Ao longo desta trajetória, compreendi que toda realização é sustentada por uma rede de apoio. Ninguém chega longe sozinho. Cada passo que damos carrega um pouco daqueles que acreditaram em nós quando ainda não éramos capazes de enxergar o caminho por completo.

Sempre acreditei que a vida encontra sentido nos propósitos que construímos ao longo dela. O meu propósito sempre esteve nos estudos. Desde cedo, ouvi de minha família que a educação ampliaria meus horizontes e me permitiria sonhar mais alto. E eles tinham razão. Mas, curiosamente, quanto mais estudei, mais percebi o quanto ainda há para aprender. Os estudos me ensinaram não apenas sobre o mundo, mas também sobre a nossa pequenez diante da imensidão do conhecimento e da própria vida. E isso me fez enxergar tudo com mais humildade, gratidão e admiração.

Durante muitos anos ouvi que ciência e fé ocupavam lugares opostos. Que uma exige provas e a outra exige crença. Entretanto, a minha trajetória me ensinou algo diferente. Como dizia Ariano Suassuna, sempre procurei ser uma “realista esperançosa”. Eu não sabia como seria o caminho da pós-graduação, tampouco quais desafios encontraria, mas acreditei que aquele era o meu lugar. Tive fé durante todo o percurso.

Talvez exista, de fato, uma beleza especial na ciência. Todo pesquisador, em alguma

medida, acredita que seu trabalho poderá contribuir, ainda que modestamente, para melhorar o mundo ao seu redor. Antes dos resultados, das publicações e dos reconhecimentos, existe a esperança de que aquilo que fazemos tenha significado.

Os anestésicos inalatórios entraram em minha vida exatamente assim: pela magia da dúvida e pela beleza de tentar compreender seus efeitos. Foram oito anos de aprendizado, desde a iniciação científica até a conclusão deste doutorado. Oito anos que me ensinaram que cada descoberta científica é resultado de uma construção coletiva que atravessa gerações, países, histórias e pessoas. Pensar em quantos pesquisadores contribuíram para que hoje pudéssemos avançar um pequeno passo além é algo que me emociona profundamente.

Talvez esta seja uma das maiores belezas da ciência: compreender que cada contribuição importa, por menor que pareça, e que todos os acontecimentos, esforços e pessoas ajudam a construir o presente. Por isso, sinto uma profunda gratidão por poder fazer parte dessa história.

Escrever estas palavras me emociona porque são muitas as pessoas que merecem ser lembradas. Se, porventura, eu não conseguir mencionar todas nominalmente nas próximas páginas, saibam que cada uma delas ocupa um lugar especial em minha memória e em meu coração.

Assim, dedico este trabalho a todos aqueles que caminharam comigo e tornaram esta conquista possível:

A Deus, por todas as pessoas e oportunidades que colocou em minha vida. Por guiar meus passos, iluminar meus caminhos e me amparar em todos os momentos.

"A liberdade que Deus vos deu é de fato a maior e melhor prova do Seu amor. "
Masanobu Taniguchi. Canto em Louvor ao Bodhisatva que Reflete os Sonhos do Mundo.

Aos meus antepassados, cujas histórias, escolhas e jornadas de vida tornaram possível a chegada da minha geração até aqui. Carrego comigo o legado daqueles que vieram antes de mim e que, de alguma forma, permanecem presentes em cada conquista.

"O amor de Deus pelo mundo revela-se na profundidade do amor que os seres humanos podem sentir uns pelos outros. "
Martin Buber

Aos meus pais, Eliane Aparecida Pereira da Silva e Marcos Antônio da Silva, meus primeiros e mais importantes professores na escola da vida. Por terem se dedicado integralmente à minha formação, apoiando-me incondicionalmente e tornando possíveis os meus sonhos, mesmo quando exigiam sacrifícios silenciosos.

"O sonho é que leva a gente para frente. Se a gente for seguir a razão, fica aquietado, acomodado. "
Ariano Suassuna

Aos meus avós, Júlia de Moura (*in memoriam*), Antônia Paz Pereira e Waldemar Geraldo Pereira, e à minha tia Elaine Cristina Pereira, que, com amor infinito e abençoado, me ensinaram sobre a beleza da vida, da simplicidade, da família e da gratidão.

"Eu sou um apaixonado pela vida, amo profundamente a vida. Ode que essa malhada tem me maltratado, mas eu gosto dela. "
Ariano Suassuna

Aos Mestres Masaharu Taniguchi e Teruko Taniguchi (*in memoriam*), pelos valiosos ensinamentos deixados à humanidade, que inspiraram minha forma de compreender a vida, a gratidão e o propósito da existência.

"Não há satisfação maior do que aquela que sentimos quando proporcionamos alegria aos outros. "
Masaharu Taniguchi

Agradecimento Especial

À Doutora Mariana Gobbo Braz,

Agradeço pela confiança, paciência e orientação ao longo de todos esses anos. Com a senhora, aprendi que a formação de um pesquisador vai muito além do conhecimento científico: exige revisitar ideias, refazer caminhos e perseverar diante das dificuldades. Houve momentos em que duvidei de mim mesma, mas nunca da certeza de que havia alguém acreditando em meu potencial e me impulsionando a seguir em frente. Graças à sua confiança, vivi experiências que pareciam distantes da minha realidade e alcancei lugares que jamais imaginei conhecer. Levo comigo não apenas os conhecimentos adquiridos, mas também o exemplo de dedicação e responsabilidade na formação de pessoas. Parte desta conquista carrega, para sempre, a sua contribuição. Sou profundamente grata por tudo o que aprendi ao seu lado.

Ao Professor Associado Leandro Gobbo Braz e meu coorientador,

Agradeço pela generosidade em compartilhar conhecimento, pelas orientações e pelas contribuições essenciais para a construção deste trabalho.

“Se consegui ver mais longe é porque estava aos ombros de gigantes”.

Isaac Newton

Agradecimento Especial

Ao Doutor Luis Alejandro Jose Mur,

Por ter me acolhido na *Aberystwyth University* e por compartilhar generosamente seus conhecimentos em metabolômica. Agradeço pela paciência, pelos ensinamentos e pela oportunidade de expandir meus horizontes científicos em um ambiente de excelência.

A todos aqueles que tive a alegria de conhecer em *Aberystwyth* (Reino Unido),

Obrigada pelo acolhimento, pela amizade, pelas conversas, pelos ensinamentos e pelos momentos de descontração. Vocês tornaram uma experiência que inicialmente parecia desafiadora em uma das etapas mais enriquecedoras da minha vida. Levo comigo não apenas o conhecimento adquirido, mas também as memórias, os sorrisos e o carinho construídos durante essa jornada.

"O que vale na vida não é o ponto de partida nem a chegada, mas a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher."

Cora Coralina

Agradecimento Especial

Aos camundongos e ratos que fizeram parte desta pesquisa,

Àqueles que, silenciosamente, contribuíram para o avanço da ciência, dedico meu respeito, minha gratidão e meu compromisso com a ética. Embora sua participação tenha ocorrido de forma anônima, reconheço o valor de cada vida que tornou possível esta pesquisa e espero que os resultados alcançados possam honrar essa contribuição, ampliando a compreensão científica.

"A verdade de que 'a infinidade de almas são todas reflexos do mesmo Espírito Divino' deve ser estendida a todas as vidas. Se compreenderdes que todas as vidas são irmãs, tornar-se-á claro que o processo de desenvolvimento da vida sobre a Terra é expressão da Sabedoria, do Amor e da Vida de Deus. "

*Masanobu Taniguchi, Canto em Louvor à
Natureza.*

Agradecimentos

A Deus, pela orientação, proteção e por iluminar meus caminhos ao longo desta jornada.

Aos meus pais, por estarem sempre ao meu lado, orientando-me e torcendo para que meus sonhos se tornassem realidade. Aos meus avós e à minha tia, que, com amor e carinho, também fizeram parte dessa rede de apoio tão fundamental em minha vida. Estendo minha gratidão a todos os meus familiares.

A Guilherme Ribeiro Romualdo, meu companheiro de vida. Por caminhar ao meu lado em todas as fases desta jornada, compartilhando sonhos, desafios e conquistas. Por me lembrar, diariamente, que os caminhos mais difíceis se tornam mais leves quando percorridos a dois.

A todos os docentes que ministraram disciplinas no Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pelo empenho na formação de profissionais comprometidos com a excelência.

Aos membros participantes das bancas de qualificação e defesa: Camila Renata Correa Camacho, Daniel Rodrigues Cardoso, Estela de Oliveira Lima, Fábio Rodrigues Ferreira Seiva, Frank Silva Bezerra, Gisela de Aragão Umbuzeiro, Marco Aurélio Marangoni, Marcos Ferreira Minicucci e Maria Lucia Zaidan Dagli. Agradeço pela disponibilidade em aceitar o convite e pelas valiosas contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

Aos meus parceiros do laboratório GENOTOX e amigos, Tony Fernando Grassi e Maria Vitória Destro. Obrigada pelas conversas, pelos conselhos, pelas risadas nos momentos mais necessários e por estarem presentes em cada etapa desta fase da minha vida. Agradeço também a Elautério de Carvalho e Beatriz Braga Silva, que, embora mais recentemente integrados ao laboratório, também contribuíram para tornar esta jornada mais leve e enriquecedora.

Às minhas antigas parceiras de laboratório, Aline Aun, Drielle Baptista dos Santos Figueiredo, Juliana Rodrigues Lara e Kátina Meneghetti de Souza, agradeço pelo acolhimento, pelos ensinamentos e pelo apoio no início do doutorado. A convivência com vocês foi fundamental para minha formação e permanecerá como uma lembrança muito especial.

A Hendrew Jesus Barbosa Campos de Souza, Isadora Bueno Pesciutti de Souza, Gabriel de Camargo Zaccariotto, Cíntia Oliveira e Rafael Henrique Almeida Oliveira, alunos de iniciação científica do laboratório GENOTOX, bem como a Samara Pereira Souza e Gustavo Lopes Ribeiro, alunos de iniciação científica do Ensino Médio do mesmo laboratório, agradeço pela convivência, dedicação e entusiasmo, bem como pelos valiosos momentos de troca de conhecimentos e crescimento mútuo.

A todos os funcionários da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPLEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pelo acolhimento, dedicação e assistência prestados para a realização deste projeto. Meu agradecimento especial também às profissionais da limpeza, que diariamente contribuíram para manter os ambientes organizados e acolhedores.

Às secretárias Tatiane de Fátima Pineiz Biondo, Ligia Stefani Tomazelli e Márcia Fonseca Piagentini Cruz, pela paciência e orientação quanto às normas do Programa de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. Agradeço também aos servidores Joana Jacirene Costa Teixeira e André Renato Passaroni, da Divisão de Anestesiologia, pela disponibilidade e pelo auxílio sempre que necessário.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio financeiro (Processo nº 2022/10697-8) e da bolsa de doutorado (Processo nº 2023/05304-0), fundamentais para a realização deste projeto. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa (Processo nº 88887.704623/2022-00). Agradeço ainda ao programa SPRINT-FAPESP (Processo nº 2023/14529-5) e ao CAPES-PrInt (Processo nº 88887.976759/2024-00), que subsidiaram minha mobilidade acadêmica na *Aberystwyth University*.

Epígrafe

"Não esquecer que por enquanto é tempo de morangos".
Clarice Lispector

Sumário

Introdução	1
Histórico, perfil farmacocinético e aspectos toxicológicos do sevoflurano	1
Considerações fisiológicas e modelos experimentais em anestesia de roedores	5
Da toxicologia experimental à prática clínica: a relevância dos estudos concentração-resposta	7
A exposição ao sevoflurano e o estresse oxidativo	9
Exposição ao sevoflurano e genotoxicidade	13
Exposição ao sevoflurano e expressão gênica	17
Metabolômica e exposição ao sevoflurano	19
Importância da compreensão interdisciplinar, da avaliação translacional e da contribuição para as lacunas existentes	22
Referências ¹	23
Objetivos	33
Manuscrito 1	34
ABSTRACT	34
1. Introduction	35
2. Materials and Methods	37
2.1. Chemicals	37
2.2. Animals and experimental design	38
2.3. Euthanasia and sampling	39
2.4. Oxidative stress	40
2.5. Gene expression	41
2.6. Genotoxicity	42
2.7. Statistical analysis	42
3. Results	43
4. Discussion	47
References	51
Manuscrito 2	56
ABSTRACT	56
Introduction	57
Materials and methods	58
Experimental conditions	58
Metabolomic analysis	60
Plasma triglyceride analysis	61
DNA damage assessment	61
Statistical analysis	62
Results	62

Discussion	69
References	74
Manuscrito 3	79
ABSTRACT	79
INTRODUCTION	80
MATERIALS AND METHODS	81
Biological sample collection and metabolomic analysis	82
Statistical Analysis	84
RESULTS	84
Plasma	85
Lung	87
Brain	88
Liver	91
Kidney	93
Multi-organ metabolic network and signature analysis	94
DISCUSSION	99
REFERENCES	105
Conclusão geral	110
Artigos publicados durante o doutorado como autora	111
Artigos publicados durante o doutorado como coautora	117
Prêmios recebidos durante o doutorado em autoria	118
Prêmios e reconhecimentos recebidos durante o doutorado como coautora	120
Anexo I – Certificado de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMB/UNESP – Botucatu para o estudo em camundongos	121
Anexo II – Certificado de aprovação pela CEUA da FMB/UNESP – Botucatu para o estudo em ratos	122
Anexo III – Certificado de aprovação pela CEUA da FMB/UNESP – Botucatu referente à alteração do título do projeto	123

Resumo

Silva MAP. Avaliação toxicogenética, oxidativa e ômica da exposição ao sevoflurano: estudo experimental [Tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista - UNESP; 2026.141 f.

Dado o seu amplo uso clínico, é fundamental avaliar os efeitos biológicos atribuíveis ao sevoflurano, um anestésico inalatório mundialmente utilizado. Nesse contexto, modelo animal constitui plataforma controlada para investigar possível toxicidade, minimizando fatores de confusão cirúrgicos, e permitindo a obtenção de achados translacionais. No presente estudo, utilizamos modelos experimentais para caracterizar, de forma integrada, os efeitos sistêmicos e órgão-específicos da exposição aguda ao sevoflurano. Camundongos e ratos foram expostos durante 2 h, por meio de sistema de inalação de baixo fluxo (40% de oxigênio), a concentrações clinicamente relevantes correspondentes à anestesia de manutenção (3,3% em camundongos e 3,5% em ratos), anestesia profunda (4,5% em camundongos e 4,8% em ratos) e concentração supratrapêutica (6,0% em ambas as espécies), além de grupo controle não exposto. Nos camundongos, as avaliações foram realizadas 2 e 24 h após anestesia. As análises tecido-específicas demonstraram respostas redox e transcricionais distintas entre os órgãos. No pulmão, as concentrações de 4,5% e 6,0% reduziram a capacidade antioxidante ($p=0,01$), enquanto 6,0% aumentou os danos ao DNA ($p=0,008$), acompanhado por maior expressão gênica de *Ogg1* ($p=0,002$) e redução de *Sirt1* Pareto ($p=0,004$). No fígado, embora não tenham sido observadas alterações nos biomarcadores de estresse oxidativo ou danos genéticos, verificou-se modulação transcricional caracterizada por redução da expressão de *Ogg1* no grupo 6,0% ($p=0,0002$), aumento de *Cyp2e1* nas maiores concentrações ($p<0,0001$), aumento de *Nat2* em todos os grupos expostos ($p=0,001$), hiperexpressão de *Apoa5* em 6,0% ($p=0,03$) e redução de *Nrf2* nas concentrações de 4,5% e 6,0% ($p=0,003$). No rim, a concentração de 4,5% promoveu aumento da oxidação proteica ($p=0,01$) e danos ao DNA ($p=0,001$), acompanhado por hiperexpressão de *Nrf2* nas concentrações de 3,3% e 4,5% ($p=0,004$) e de *Ppargc1a* em todas as concentrações avaliadas ($p=0,002$). Adicionalmente, a metabolômica plasmática revelou respostas sistêmicas dependentes da concentração e do tempo. Após 2 h da exposição, a concentração de 3,3% promoveu remodelamento lipídico e modulação de oxilipinas, associados ao aumento do lactato, compatíveis com reprogramação metabólica transitória em direção ao metabolismo glicolítico. Na concentração intermediária houve depleção de ácidos graxos, acúmulo de metilglioxal, alterações no metabolismo de nucleotídeos e aumento dos danos ao DNA ($p=0,01$). Na maior concentração, verificaram-se depleção acentuada de metabólitos lipídicos, alterações em intermediários glicolíticos e do ciclo do ácido tricarboxílico, enriquecimento de vias relacionadas ao metabolismo de aminoácidos, homeostase redox e metabolismo do nitrogênio, além de aumento dos danos ao DNA ($p=0,01$). Um dia após a exposição, observou-se recuperação metabólica parcial na concentração de 3,3%, embora o aumento persistente de metilglioxal e de marcadores de estresse oxidativo sugerisse resolução incompleta, acompanhado por redução dos triglicerídeos plasmáticos ($p<0,001$ vs. 2 h; $p=0,003$ vs. controle). Na concentração de 4,5%, níveis elevados de S-lactoilglutathione indicaram ativação da via da glioxalase, enquanto a concentração de 6,0% manteve o remodelamento lipídico, a redução dos triglicerídeos ($p<0,001$ vs. 2 h) e a persistência dos danos ao DNA ($p=0,004$). Para ampliar a compreensão das alterações metabólicas imediatamente após a exposição ao sevoflurano, realizou-se metabolômica não direcionada em plasma e múltiplos tecidos de ratos. A exposição induziu remodelamento metabólico sistêmico e órgão-específico, caracterizado pelo enriquecimento consistente das vias do metabolismo do ácido linoleico e do glioxilato/dicarboxilato no plasma, acompanhado por aumento da glutathione oxidada. No pulmão, observou-se enriquecimento da biossíntese de

ácidos graxos insaturados; no cérebro, alterações no metabolismo de glutamato, glutamina e triptofano; no fígado, extensa reorganização metabólica, incluindo redução de metabólitos do ciclo da ureia; e, no rim, enriquecimento das vias de glicina, serina, treonina, alanina, aspartato e glutamato, associado à redução dos níveis de taurina. As respostas de taurina e glutamina diferiram entre os tecidos, evidenciando adaptações metabólicas órgão-específicas. Em conjunto, os resultados demonstram que uma única exposição por 2 h ao sevoflurano é suficiente para induzir respostas biológicas dependentes da concentração e do tempo de avaliação, envolvendo remodelamento lipídico, alterações bioenergéticas, modulação do metabolismo de nucleotídeos, desequilíbrio redox e genotoxicidade. Concentrações próximas às utilizadas na prática clínica desencadearam adaptações metabólicas transitórias, enquanto exposições mais elevadas produziram alterações mais intensas e persistentes, incluindo danos genéticos e remodelamento metabólico multiorgânico. Esta tese fornece a primeira caracterização integrada dos efeitos metabolômicos, moleculares e toxicológicos sistêmicos e órgão-específicos do sevoflurano em modelos experimentais, estabelecendo uma base mecanística para compreender tanto os eventos iniciais desencadeados imediatamente após a exposição quanto as adaptações metabólicas relevantes ao contexto perioperatório.

Palavras-chave: Sevoflurano, Genotoxicidade, Estresse oxidativo, Expressão gênica, Metabolômica

Abstract

Silva MAP. Toxicogenetic, oxidative, and omics evaluation of sevoflurane exposure: an experimental study [PhD thesis]. Botucatu: Medical School, São Paulo State University - UNESP; 2026. 141 p.

Given its widespread clinical use, it is essential to investigate the biological effects directly attributable to sevoflurane, one of the most commonly used volatile anesthetics worldwide. In this context, experimental animal models provide a controlled platform for evaluating its potential toxicity by minimizing surgery-related confounding factors while enabling the generation of translational insights. In the present study, experimental models were used to comprehensively characterize the systemic and organ-specific effects of acute sevoflurane exposure. Mice and rats were exposed for 2 h using a low-flow inhalation system (40% oxygen) to clinically relevant concentrations corresponding to maintenance anesthesia (3.3% in mice and 3.5% in rats), deep anesthesia (4.5% in mice and 4.8% in rats), and a supratherapeutic concentration (6.0% in both species), together with an unexposed control group. In mice, evaluations were performed 2 and 24 h after anesthesia. Tissue-specific analyses revealed distinct redox and transcriptional responses among organs. In lungs, exposure to 4.5% and 6.0% reduced antioxidant capacity ($p = 0.01$), whereas 6.0% increased DNA damage ($p=0.008$), accompanied by upregulation of gene expression *Ogg1* ($p=0.002$) and reduced *Sirt1* expression ($p=0.004$). In the liver, although no changes were observed in oxidative stress biomarkers or genetic damage, transcriptional modulation was evident, including reduced *Ogg1* expression in the 6.0% group ($p=0.0002$), increased *Cyp2e1* expression at the higher concentrations ($p<0.0001$), increased *Nat2* expression in all exposed groups ($p=0.001$), *Apoa5* overexpression at 6.0% ($p=0.03$), and reduced *Nrf2* expression at 4.5% and 6.0% ($p=0.003$). In kidneys, exposure to 4.5% increased protein oxidation ($p=0.01$) and DNA damage ($p=0.001$), accompanied by upregulation of *Nrf2* at 3.3% and 4.5% ($p=0.004$) and upregulation of *Ppargc1a* across all exposure concentrations ($p=0.002$). Plasma metabolomics further demonstrated concentration- and time-dependent systemic responses. Two h after exposure, 3.3% sevoflurane induced lipid remodeling and oxylipin modulation, accompanied by increased lactate levels, consistent with transient metabolic reprogramming toward glycolytic metabolism. At the intermediate concentration, depletion of fatty acids, accumulation of methylglyoxal, alterations in nucleotide metabolism, and increased DNA damage ($p=0.01$) were observed. At the highest concentration, marked depletion of lipid metabolites, alterations in glycolytic and tricarboxylic acid cycle intermediates, enrichment of pathways associated with amino acid metabolism, redox homeostasis, and nitrogen metabolism, together with increased DNA damage ($p=0.01$), were identified. Twenty-four h after exposure, partial metabolic recovery was observed in the 3.3% group; however, the persistent elevation of methylglyoxal and oxidative stress markers suggested incomplete resolution, accompanied by reduced plasma triglyceride levels ($p<0.001$ vs. 2 h; $p=0.003$ vs. control). At 4.5%, increased S-lactoylglutathione levels indicated activation of the glyoxalase pathway, whereas exposure to 6.0% maintained lipid remodeling, reduced plasma triglycerides ($p<0.001$ vs. 2 h), and persistent DNA damage ($p=0.004$). To further characterize the immediate metabolic alterations induced by sevoflurane exposure, untargeted metabolomics was performed in plasma and multiple tissues from rats. Sevoflurane exposure induced both systemic and organ-specific metabolic remodeling, characterized by consistent enrichment of linoleic acid metabolism and glyoxylate/dicarboxylate metabolism in plasma, accompanied by increased oxidized glutathione levels. In the lung, enrichment of unsaturated fatty acid biosynthesis was observed; in the brain, alterations in glutamate, glutamine, and tryptophan metabolism were identified; in the liver, extensive metabolic reorganization included reduced urea cycle metabolites; and in the kidney, enrichment of glycine, serine, threonine, alanine, aspartate, and glutamate metabolism was associated with decreased taurine levels. Tissue-specific differences in taurine and glutamine responses further highlighted distinct metabolic adaptations across organs. Collectively, these findings demonstrate that a single 2-h exposure to sevoflurane is sufficient to induce concentration- and

time-dependent biological responses involving lipid remodeling, bioenergetic alterations, modulation of nucleotide metabolism, redox imbalance, and genotoxicity. Concentrations comparable to those used in clinical practice primarily elicited transient metabolic adaptations, whereas higher exposures produced more pronounced and persistent alterations, including genetic damage and multiorgan metabolic remodeling. This thesis provides the first integrated characterization of the systemic and organ-specific metabolomic, molecular, and toxicological effects of sevoflurane in experimental models, establishing a mechanistic framework for understanding both the early biological events triggered immediately after exposure and the subsequent metabolic adaptations relevant to the perioperative setting.

Keywords: Sevoflurane; Genotoxicity; Oxidative stress; Gene expression; Metabolomics.

Introdução

Histórico, perfil farmacocinético e aspectos toxicológicos do sevoflurano

Atualmente, aproximadamente 313 milhões de procedimentos cirúrgicos são realizados anualmente em todo o mundo, envolvendo amplo uso de anestésicos inalatórios (Meara et al., 2016). Destaca-se que o desenvolvimento desses anestésicos foi marcado pela halogenação de hidrocarbonetos precursores (halogenados), estratégia química fundamental para reduzir sua inflamabilidade e aumentar a estabilidade e segurança de uso clínico (Larson, 2010). Entre esses agentes, o sevoflurano consolidou-se como um dos mais amplamente empregados na prática anestésica contemporânea, sobretudo em razão de seu perfil farmacocinético. Patenteado em 1970, o composto recebeu essa denominação devido à presença de sete átomos de flúor em sua estrutura molecular (Ikeda e Makino, 2022).

Estudos iniciais em modelos animais descreveram o sevoflurano como um anestésico de odor não irritante e demonstraram discreto aumento da excreção urinária de fluoreto inorgânico nas primeiras 24 horas após a exposição anestésica (Wallin et al., 1975). Quanto ao perfil farmacocinético, o sevoflurano é administrado por via inalatória, sendo absorvido através da membrana alvéolo-capilar e distribuído pela circulação sistêmica. Em razão do seu baixo coeficiente de partição sangue/gás e óleo/gás, o anestésico atinge a circulação arterial e distribui-se para órgãos perfundidos, especialmente o sistema nervoso central, principal alvo de seus efeitos anestésicos (Patel e Goa, 1996). Essas características contribuem para a rápida indução e recuperação anestésica observadas, especialmente em anestesia pediátrica (Yasuda et al., 1989; Apai et al., 2021; Huang et al., 2021).

Os anestésicos inalatórios também podem influenciar a dinâmica cerebrovascular por meio de ações concomitantes sobre o metabolismo cerebral e o tônus vascular. Em comparação com outros anestésicos halogenados, o sevoflurano apresenta menor efeito vasodilatador cerebral relativo, característica frequentemente associada à manutenção mais estável da perfusão cerebral e da estabilidade cardiovascular durante o procedimento anestésico (McCulloch e Young, 2010).

Adicionalmente, esse anestésico exerce importantes efeitos hemodinâmicos por meio da modulação do sistema nervoso autônomo, com atenuação da atividade simpática cardiovascular. Nesse sentido, Kurosawa et al. (1989) demonstraram, em ratos *Wistar*, que o aumento da concentração do sevoflurano promove redução da atividade do nervo simpático cardíaco, sem alterações significativas na atividade do nervo parassimpático cardíaco, bem como do nervo simpático renal. Esses achados

reforçam o papel do sevoflurano na regulação da resposta cardiovascular durante a anestesia, contribuindo para maior estabilidade hemodinâmica intraoperatória.

Além disso, evidências recentes demonstram que o sevoflurano pode exercer efeitos diretos sobre células endoteliais vasculares, promovendo aumento concentração-dependente da permeabilidade vascular pulmonar (Li et al., 2025a), o que reforça o potencial impacto sistêmico desse anestésico sobre a homeostase vascular e tecidual. Ademais, durante a anestesia, ocorre simultaneamente captação pulmonar contínua e eliminação expiratória do anestésico, estabelecendo equilíbrio dinâmico entre absorção, distribuição tecidual e eliminação. Esse processo resulta em um estado estacionário farmacocinético, no qual as pressões parciais do anestésico tendem a permanecer relativamente equilibradas entre pulmões, sangue e cérebro, permitindo maior estabilidade da profundidade anestésica ao longo do procedimento (Dale e Brown, 1987).

Embora quantitativamente reduzido, o metabolismo do sevoflurano apresenta relevância biológica. Aproximadamente 5% do anestésico sofre biotransformação hepática mediada principalmente pela isoenzima citocromo P450 2E1 (CYP2E1), originando hexafluoroisopropanol (HFIP) e íons fluoreto inorgânico (Kharasch et al., 1995). O HFIP é rapidamente conjugado, sendo que mais de 85% circula no plasma sob a forma de glicuronídeos (Kharasch, 1995). Em relação aos íons fluoreto, concentrações séricas máximas foram descritas ao final da exposição anestésica e durante o primeiro dia após a anestesia (Holaday e Smith, 1981), evidenciando a persistência transitória dos metabólitos circulantes mesmo após a interrupção da administração do anestésico. Destaca-se que ambos os metabólitos são eliminados pelos rins.

Adicionalmente, sabe-se que anestésicos voláteis podem sofrer degradação química na presença de absorvedores de dióxido de carbono (CO₂), resultando na formação de subprodutos potencialmente tóxicos, incluindo monóxido de carbono – CO (Coppens et al., 2006). Entre eles, o principal produto de degradação do sevoflurano é o fluorometil-2,2-difluoro-1-(trifluorometil) vinil éter, conhecido como composto A (Hanaki et al., 1987). Em ratos *Wistar*, a exposição ao composto A foi associada a lesões renais, evidenciadas histologicamente por necrose corticomedular dos túbulos proximais (Morio et al., 1992). Entretanto, esses achados experimentais não foram confirmados em estudos clínicos. Na revisão sistemática realizada por Ong et al. (2017), adultos sem doença renal pré-existente submetidos à anestesia com sevoflurano não apresentaram elevações clinicamente relevantes nos níveis séricos de creatinina ou nitrogênio ureico sanguíneo, indicando ausência de comprometimento significativo da função renal.

Embora estudo clínico tenha demonstrado ausência de alterações significativas da creatinina sérica após a anestesia com sevoflurano (Mazze et al., 2000), a creatinina é considerada um marcador tardio de lesão renal, podendo permanecer dentro dos valores de referência mesmo na presença de

alterações estruturais iniciais do tecido renal (Bedford e Ives, 2000). De maneira geral, as evidências disponíveis indicam que o sevoflurano não está associado à toxicidade renal clinicamente significativa em indivíduos com função renal preservada, independentemente da profundidade ou da duração da anestesia, desde que a exposição ao composto A permaneça inferior a 150 partes por milhão-hora (ppm/h) (Bedford e Ives, 2000). Dessa forma, a utilização de biomarcadores mais sensíveis e de avaliações histopatológicas torna-se relevante para a detecção precoce de potenciais efeitos nefrotóxicos.

Adicionalmente, Lockwood (2010) destacou que, apesar da recuperação clínica após a anestesia com sevoflurano ocorrer de maneira relativamente rápida, a eliminação completa do composto pode ser mais lenta em decorrência de sua redistribuição gradual a partir de tecidos adiposo e muscular. Dessa forma, concentrações residuais do anestésico podem permanecer detectáveis por dias após a interrupção da administração, sugerindo persistência da exposição tecidual e manutenção do metabolismo residual mesmo após o término do procedimento anestésico.

A determinação da profundidade anestésica é fundamental para a prática clínica e para a padronização de modelos experimentais, considerando a dinâmica de absorção, distribuição e eliminação do sevoflurano. Nesse contexto, o conceito de concentração alveolar mínima (CAM) foi introduzido em 1965 como método padronizado para avaliação da potência dos anestésicos inalatórios com base na imobilidade frente a estímulos nociceptivos (Eger et al., 1965; Lobo et al., 2024). A CAM é definida como a concentração alveolar necessária para impedir movimento em 50% dos indivíduos expostos a um estímulo doloroso.

Os valores de CAM variam entre as espécies, refletindo diferenças fisiológicas, metabólicas e farmacodinâmicas. Em humanos, 1 CAM de sevoflurano corresponde a aproximadamente 2% de concentração inspirada, enquanto em camundongos, especialmente da linhagem C57BL/6, valores próximos de 3,3% têm sido descritos (Sonner et al., 1999). De forma consistente, Cesarovic et al. (2012) demonstraram que, para garantir tolerância cirúrgica e imobilidade em praticamente todos os animais durante procedimentos experimentais, foi necessária a utilização de aproximadamente $1,5 \times$ CAM, ou seja, valores próximos de 5% de sevoflurano. Já em ratos *Wistar*, a CAM do sevoflurano apresenta valores próximos a 3,0% (Steffey et al., 2003). Dessa forma, a CAM permite comparações da potência anestésica entre diferentes espécies, mas valores equivalentes não representam exposições fisiológicas idênticas entre modelos biológicos distintos, aspecto particularmente relevante em estudos toxicológicos e translacionais envolvendo anestésicos inalatórios. A Figura 1 apresenta uma síntese esquemática do perfil farmacocinético do sevoflurano.

Por precaução, especialmente diante das incertezas relacionadas ao potencial nefrotóxico do sevoflurano, a *Food and Drug Administration* (FDA) recomenda que sua exposição não exceda 2 CAM

em fluxos de gases frescos entre 1 e $< 2 \text{ L.min}^{-1}$, além de contraindicar fluxos inferiores a 1 L.min^{-1} em humanos, enquanto as autoridades regulatórias brasileiras ainda não estabeleceram recomendações formais (Lineburger et al., 2023).

Destaca-se que o sevoflurano foi originalmente aprovado pela FDA em 1995 (Ikeda e Makino, 2022), permanecendo desde então sob contínuas revisões regulatórias de segurança (FDA, 2025). Os estudos utilizados em sua avaliação toxicológica não identificaram evidências de atividade mutagênica no teste de Ames, no ensaio de micronúcleo (MN) em camundongos, no ensaio de mutagenicidade em linfoma murino e em culturas de linfócitos humanos. De maneira semelhante, também não foram observadas aberrações cromossômicas em células de mamíferos cultivadas. Entretanto, as investigações toxicológicas descritas na documentação regulatória concentraram-se predominantemente em desfechos relacionados à neurotoxicidade, especialmente alterações cognitivas associadas a processos de aprendizagem e memória, enquanto outros possíveis efeitos biológicos sistêmicos permanecem menos explorados.

Mais recentemente, um Grupo Consultivo composto por 28 cientistas definiu prioridades para futuras avaliações de carcinogenicidade no Programa de Monografias da *International Agency for Research on Cancer* (IARC) para o período de 2025–2029, incluindo o sevoflurano entre os agentes previamente avaliados pela agência (Berrington de González et al., 2024). Até o momento, o anestésico permanece classificado no Grupo 3 da IARC, categoria destinada a agentes “não classificáveis quanto à carcinogenicidade em humanos” (IARC, 1987). Esse cenário ressalta a persistência de lacunas científicas quanto aos seus possíveis efeitos biológicos, reforçando a necessidade de estudos adicionais sobre seus potenciais mecanismos de toxicidade, genotoxicidade, bem como carcinogenicidade.

Referências ¹

Akagawa M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches. *Free Radic Res.* 2021;55:307-20. doi: 10.1080/10715762.2020.1851027.

American Society of Anesthesiologists. American Society of Anesthesiologists Statement on ASA physical status classification system. *Anesthesiology Open.* 2026;1(1):e0002. doi: 10.1097/ao9.0000000000000002.

Anzai M, Iijima N, Higo S, Takumi K, Matsuo I, Mori K, et al. Direct and specific effect of sevoflurane anesthesia on rat Per2 expression in the suprachiasmatic nucleus. *PLoS One.* 2013;8:e59454. doi: 10.1371/journal.pone.0059454.

Apai C, Shah R, Tran K, Shah SP. Anesthesia and the developing brain: a review of sevoflurane-induced neurotoxicity in pediatric populations. *Clin Ther.* 2021;43(4):762-78. doi: 10.1016/j.clinthera.2021.01.024.

Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360438. doi: 10.1155/2014/360438.

Bahadoran Z, Mirmiran P, Kashfi K, Ghasemi A. Importance of systematic reviews and meta-analyses of animal studies: challenges for animal-to-human translation. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2020;59(5):469-77. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000139.

Bedford RF, Ives HE. The renal safety of sevoflurane. *Anesth Analg.* 2000;90:505-8. doi: 10.1097/0000539-200003000-00001.

Benković V, Borojević N, Šikić D, Knežević AH, Milić M. DNA damage assessment in peripheral blood of Swiss albino mice after combined exposure to volatile anesthetics and 1 or 2 Gy radiotherapy in vivo. *Int J Radiat Biol.* 2021;97(10):1425-35. doi: 10.1080/09553002.2021.1962565.

Benković V, Oršolić N, Knežević AH, Borojević N, Brozović G, Milić M. Kidney cell DNA damage caused by combined exposure to volatile anaesthetics and 1 Gy or 2 Gy radiotherapy dose in vivo. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2022;73(1):62-70. doi: 10.2478/aiht-2022-73-3600.

Benković V, Milić M, Oršolić N, Knežević AH, Brozović G, Borojević N. 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. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2023a;74(1):22-33. doi: 10.2478/aiht-2023-74-3692.

¹ As referências bibliográficas desta tese foram revisadas pela bibliotecária Lis Helena Ravanini (Biblioteca da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP), de acordo com o estilo *Vancouver*, utilizando como referência o manual *Citing Medicine: The NLM Style Guide for Authors, Editors, and Publishers*, 2ª edição, atualizado em 2015, da U.S. National Library of Medicine (NLM). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>.

Benković V, Milić M, Oršolić N, Knežević AH, Brozović G, Borojević N. Brain DNA damaging effects of volatile anesthetics and 1 and 2 Gy gamma irradiation in vivo: preliminary results. *Toxicol Ind Health*. 2023b;39(2):67-80. doi: 10.1177/07482337221145599.

Berrington de González A, Masten SA, Bhatti P, Fortner RT, Peters S, Santonen T, et al. Advisory Group recommendations on priorities for the IARC monographs. *Lancet Oncol*. 2024;25(5):546-8. doi: 10.1016/S1470-2045(24)00208-0.

Bolker JA. Animal models in translational research: rosetta stone or stumbling block? *Bioessays*. 2017;39(12):1700089. doi: 10.1002/bies.201700089.

Braz MG, Mazoti MÁ, Giacobino J, Braz LG, Golim MA, Ferrasi AC, et al. Genotoxicity, cytotoxicity and gene expression in patients undergoing elective surgery under isoflurane anaesthesia. *Mutagenesis*. 2011a;26(3):415-20. doi: 10.1093/mutage/geq109.

Braz MG, Braz LG, Barbosa BS, Giacobino J, Orosz JE, Salvadori DM, et al. DNA damage in patients who underwent minimally invasive surgery under inhalation or intravenous anesthesia. *Mutat Res*. 2011b;726(2):251-4. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.09.007.

Brown EN, Lydic R, Schiff ND. General anesthesia, sleep, and coma. *N Engl J Med*. 2010;363(27):2638-50. doi: 10.1056/NEJMr0808281.

Brown TA. *Genomes* [Internet]. 2nd ed. Oxford: Wiley-Liss; 2002 [citado 9 Jun 2026]. Regulation of genome activity. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21127/>.

Brozovic G, Orsolic N, Knezevic F, Knezevic AH, Benkovic V, Vrdoljak DV, et al. Evaluation of DNA damage in vivo induced by combined application of cisplatin and sevoflurane. *Eur J Anaesthesiol*. 2008;25(8):642-7. doi: 10.1017/S0265021508004171.

Brozovic G, Orsolic N, Rozgaj R, Kasuba V, Knezevic F, Knezevic AH, et al. DNA damage and repair after exposure to sevoflurane in vivo, evaluated in Swiss albino mice by the alkaline comet assay and micronucleus test. *J Appl Genet*. 2010;51(1):79-86. doi: 10.1007/BF03195714.

Cai L. Advancing dose-response research: integrating exposome, multi-omics, and low-dose phenomena in toxicology and medicine. *Dose Response*. 2025;23(4):15593258251395790. doi: 10.1177/15593258251395790.

Calabrese EJ, Baldwin LA. Toxicology rethinks its central belief. *Nature*. 2003;421(6924):691-2. doi: 10.1038/421691a.

Cesarovic N, Jirkof P, Rettich A, Nicholls F, Arras M. Combining sevoflurane anesthesia with fentanyl-midazolam or s-ketamine in laboratory mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2012;51(2):209-18.

Clements P, Bolon B, McInnes E, Mukaratirwa S, Scudamore C. Animal models in toxicologic research: rodents. In: Haschek WM, Rousseaux CG, editors. *Haschek and Rousseaux's handbook of toxicologic pathology*. 4th ed. New York: Academic Press; 2022. p. 653-94. doi: 10.1016/b978-0-12-821044-4.00011-x.

Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol*. 2004;26(3):249-61. doi: 10.1385/MB:26:3:249.

Collins AR, Oscoz AA, Brunborg G, Gaivão I, Giovannelli L, Kruszewski M, et al. The comet assay: topical issues. *Mutagenesis*. 2008;23(3):143-51. doi: 10.1093/mutage/gem051.

Coppens MJ, Versichelen LFM, Rolly G, Mortier EP, Struys MMRF. The mechanisms of carbon monoxide production by inhalational agents. *Anaesthesia*. 2006;61(5):462-8. doi: 10.1111/j.1365-2044.2006.04536.x.

Cukurova Z, Cetingok H, Ozturk S, Gedikbasi A, Hergunsel O, Ozturk D, et al. DNA damage effects of inhalation anesthetics in human bronchoalveolar cells. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(32):e16518. doi: 10.1097/MD.00000000000016518.

Curtis JM, Hahn WS, Long EK, Burrill JS, Arriaga EA, Bernlohr DA. Protein carbonylation and metabolic control systems. *Trends Endocrinol Metab*. 2012;23(8):399-406. doi: 10.1016/j.tem.2012.05.008.

Dale O, Brown BR Jr. Clinical pharmacokinetics of the inhalational anaesthetics. *Clin Pharmacokinet*. 1987;12:145-67. doi: 10.2165/00003088-198712030-00001.

Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003;329(1/2):23-38. doi: 10.1016/s0009-8981(03)00003-2.

De Bont R, Van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis*. 2004;19:169-85. doi: 10.1093/mutage/geh025.

Desborough JP. The stress response to trauma and surgery. *Br J Anaesth*. 2000;85(1):109-17. doi: 10.1093/bja/85.1.109.

Destro MV, Silva MAP, Grassi TF, Carvalho LR, Salvadori DMF, Braz LG, et al. Genetic instability of a single exposure to sevoflurane at different concentrations in monitored mice. *Environ Mol Mutagen*. 2025;66(1/2):58-68. doi: 10.1002/em.22647.

Eger EI 2nd, Saidman LJ, Brandstater B. Minimum alveolar anesthetic concentration: a standard of anesthetic potency. *Anesthesiology*. 1965;26(6):756-63. doi: 10.1097/00000542-196511000-00010.

Fiehn O. Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. *Comp Funct Genomics*. 2001;2(3):155-68. doi: 10.1002/cfg.82.

Fiserova-Bergerova V. Extrapolation of physiological parameters for physiologically based simulation models. *Toxicol Lett*. 1995;79(1/3):77-86. doi: 10.1016/0378-4274(95)03359-s.

Gargiulo S, Greco A, Gramanzini M, Esposito S, Affuso A, Brunetti A, et al. Mice anesthesia, analgesia, and care, Part I: anesthetic considerations in preclinical research. *ILAR J*. 2012;53(1):E55-69. doi: 10.1093/ilar.53.1.55.

Giera M, Lingeman H, Niessen WM. Recent advancements in the LC- and GC-based analysis of Malondialdehyde (MDA): a brief overview. *Chromatographia*. 2012;75(9/10):433-40. doi: 10.1007/s10337-012-2237-1.

Gonzalez-Hunt CP, Wadhwa M, Sanders LH. DNA damage by oxidative stress: Measurement strategies for two genomes. *Curr Opin Toxicol*. 2018;7(22):87-94. doi: 10.1016/j.cotox.2017.11.001.

Hanaki C, Fujii K, Morio M, Tashima T. Decomposition of sevoflurane by sodalime. *Hiroshima J Med Sci*. 1987;36(1):61-7.

Heydari F, Nasiri M, Haroabadi A, Babaei JF, Pestehei SK. Efficacy of melatonin in alleviating disorders arising from repeated exposure to sevoflurane in males and females of the Wistar rats during preadolescence. *Sci Rep*. 2024;14(1):11889. doi: 10.1038/s41598-024-62170-4.

Hintzsche H, Hemmann U, Poth A, Utesch D, Lott J, Stopper H. Fate of micronuclei and micronucleated cells. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2017;771:85-98. doi: 10.1016/j.mrrev.2017.02.002.

Holaday DA, Smith FR. Clinical characteristics and biotransformation of sevoflurane in healthy human volunteers. *Anesthesiology*. 1981;54(2):100-6. doi: 10.1097/00000542-198102000-00002.

Huang X, Ying J, Yang D, Fang P, Wang X, Zhou B, et al. The mechanisms of sevoflurane-induced neuroinflammation. *Front Aging Neurosci*. 2021;13:717745. doi: 10.3389/fnagi.2021.717745.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Suppl 7. p. 1-42. Lyon: IARC; 1987. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs; p. 313-6.

Ikeda S, Makino H. A round trip: the japanese contribution to the development of sevoflurane. *Anesth Analg*. 2022;134(2):432-9. doi: 10.1213/ANE.0000000000005384.

Jin Y, Hu X, Meng F, Luo Q, Liu H, Yang Z. Sevoflurane exposure of clinical doses in pregnant rats induces Vcan changes without significant neural apoptosis in the offspring. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(2):190. doi: 10.3390/medicina59020190.

Kadota K, Iijima N, Ohe-Hayashi Y, Takumi K, Higo S, Sakamoto A, et al. Time-dependent repression of mPer2 expression in the suprachiasmatic nucleus by inhalation anesthesia with sevoflurane. *Neurosci Lett*. 2012;528(2):153-8. doi: 10.1016/j.neulet.2012.07.061.

Kang L, Piao M, Liu N, Gu W, Feng C. Sevoflurane exposure induces neuronal cell ferroptosis initiated by increase of intracellular hydrogen peroxide in the developing brain via ER stress ATF3 activation. *Mol Neurobiol*. 2024;61(4):2313-35. doi: 10.1007/s12035-023-03695-z.

Karabiyik L, Sardaş S, Polat U, Kocabaş NA, Karakaya AE. Comparison of genotoxicity of sevoflurane and isoflurane in human lymphocytes studied in vivo using the comet assay. *Mutat Res*. 2001;492(1/2):99-107. doi: 10.1016/s1383-5718(01)00159-0.

Kaşıkar H, Dumanlı Özcan AT, Biçer CK, Şenat A, Yalçın A, Altın C, et al. The effect of low flow anesthesia with sevoflurane on oxidative status: a prospective, randomized study. *Saudi Med J*. 2022;43(3):227-35. doi: 10.15537/smj.2022.43.3.20210876.

Kenyon EM. Interspecies extrapolation. *Methods Mol Biol*. 2012;929:501-20. doi: 10.1007/978-1-62703-050-2_19.

Khan FA. Translational research and anesthesia. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2014;30(2):151-2. doi: 10.4103/0970-9185.129993.

Kharasch ED, Armstrong AS, Gunn K, Artru A, Cox K, Karol MD. Clinical sevoflurane metabolism and disposition. II. The role of cytochrome P450 2E1 in fluoride and hexafluoroisopropanol formation. *Anesthesiology*. 1995;82(6):1379-88. doi: 10.1097/00000542-199506000-00009.

Kharasch ED. Biotransformation of sevoflurane. *Anesth Analg*. 1995;81 Suppl 6:S27-38. doi: 10.1097/00000539-199512001-00005.

Kurosawa M, Meguro K, Nagayama T, Sato A. Effects of sevoflurane on autonomic nerve activities controlling cardiovascular functions in rats. *J Anesth*. 1989;3(2):109-17. doi: 10.1007/s0054090030109.

Kurz A, Sessler DI, Christensen R, Dechert M. Heat balance and distribution during the core-temperature plateau in anesthetized humans. *Anesthesiology*. 1995;83(3):491-9. doi: 10.1097/00000542-199509000-00007.

Kurz A. Effects of anesthesia on thermoregulation. *Curr Anaesth Crit Care*. 2001;12(2):72-8. doi: 10.1054/cacc.2001.0328.

Lane N. Oxygen: the molecule that made the world. Oxford: Oxford University Press; 2002.

Larson MD. History of anesthetic practice. In: Gropper MA, editor. *Miller's anesthesia*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. Chap. 1, p. 23.

Leenaars CHC, Kouwenaar C, Stafleu FR, Bleich A, Ritskes-Hoitinga M, De Vries RBM, Meijboom FLB. Animal to human translation: a systematic scoping review of reported concordance rates. *J Transl Med*. 2019;17(1):223. doi: 10.1186/s12967-019-1976-2.

Levonen A-L, Landar A, Ramachandran A, Ceaser EK, Dickinson DA, Zanoni G, et al. Cellular mechanisms of redox cell signalling: role of cysteine modification in controlling antioxidant defences in response to electrophilic lipid oxidation products. *Biochem J*. 2004;378(pt 2):373-82. doi: 10.1042/BJ20031049.

Li P, Liu J, Wang R, Cao F, Li J, Wang H. Myricetin mitigated sevoflurane-induced cognitive dysfunction in aged-mice through inhibiting histone deacetylase 2/nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1 signalling-mediated ferroptosis and mitochondrial dysfunction. *Mol Neurobiol*. 2025;62:7776-91. doi: 10.1007/s12035-025-04703-0.

Li R, Huang Y, Lin K, Li X, Dilger JP, Lin J. Distinct effects of sevoflurane and propofol on vascular permeability in vitro and in a mouse model. *Anesthesiology*. 2025;142(6):1058-70. doi: 10.1097/ALN.0000000000005434.

Lineburger EB, Módolo NSP, Braz LG, Nascimento P Jr. Minimal fresh gas flow sevoflurane anesthesia and postoperative acute kidney injury in on-pump cardiac surgery: a randomized comparative trial. *Braz J Anesthesiol*. 2023;73(1):46-53. doi: 10.1016/j.bjane.2021.11.004.

Lobo SA, Ojeda J, Dua A, Singh K, Lopez J. Minimum alveolar concentration. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2024 [citado 2 Jun 2026]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532974/>.

Lockwood G. Theoretical context-sensitive elimination times for inhalation anaesthetics. *Br J Anaesth*. 2010;104(5):648-55. doi: 10.1093/bja/aeq051.

Lofgren JLS, Foley PL, Golledge HDR. Anesthesia, analgesia, and euthanasia. In: Suckow MA, Hankenson FC, Wilson RP, Foley PL, editors. *The laboratory rat*. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press; 2020. p. 699-745. doi: 10.1016/B978-0-12-814338-4.00017-9.

Long J, Zhu J, Ma D. Research progress and future perspective in anaesthesiology. *Anesthesiol Perioper Sci*. 2025;3:66. doi: 10.1007/s44254-025-00159-6.

Machado-Junior PA, Souza ABF, Castro TF, Perucci LO, Talvani A, Cangussú SD, et al. The deleterious impact of exposure to different inhaled anesthetics is time dependent. *Life Sci*. 2022;309:121004. doi: 10.1016/j.lfs.2022.121004.

Martić-Kehl MI, Schibli R, Schubiger PA. Can animal data predict human outcome? Problems and pitfalls of translational animal research. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012;39(9):1492-6. doi: 10.1007/s00259-012-2175-z.

Matsukawa T, Sessler DI, Sessler AM, Schroeder M, Ozaki M, Kurz A, et al. Heat flow and distribution during induction of general anesthesia. *Anesthesiology*. 1995;82(3):662-73. doi: 10.1097/0000542-199503000-00008.

Mazze RI, Callan CM, Galvez ST, Delgado-Herrera L, Mayer DB. The effects of sevoflurane on serum creatinine and blood urea nitrogen concentrations: a retrospective, twenty-two-center, comparative evaluation of renal function in adult surgical patients. *Anesth Analg*. 2000;90(3):683-8. doi: 10.1097/00005539-200003000-00032.

McCulloch TJ, Young WL. Cerebral physiology and the effects of anesthetic drugs. In: Gropper MA, editor. *Miller's anesthesia*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. p. 316.

McMahon M, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD. Keap1-dependent proteasomal degradation of transcription factor Nrf2 contributes to the negative regulation of antioxidant response element-driven gene expression. *J Biol Chem*. 2003;278(24):21592-600. doi: 10.1074/jbc.M300931200.

Meara JG, Leather AJ, Hagander L, Alkire BC, Alonso N, Ameh EA, et al. Global surgery 2030: evidence and solutions for achieving health, welfare, and economic development. *Int J Obstet Anesth*. 2016;25:75-8. doi: 10.1016/j.ijoa.2015.09.006.

Miyazawa T, Nakagawa K, Shimasaki S, Nagai R. Lipid glycation and protein glycation in diabetes and atherosclerosis. *Amino Acids*. 2012;42(4):1163-70. doi: 10.1007/s00726-010-0772-3.

Mizuno T, Higo S, Kamei N, Mori K, Sakamoto A, Ozawa H. Effects of general anesthesia on behavioral circadian rhythms and clock-gene expression in the suprachiasmatic nucleus in rats. *Histochem Cell Biol*. 2022;158(1/2):149-58. doi: 10.1007/s00418-022-02113-0.

Morio M, Fujii K, Satoh N, Imai M, Kawakami U, Mizuno T, et al. Reaction of sevoflurane and its degradation products with soda lime. Toxicity of the byproducts. *Anesthesiology*. 1992;77(6):1155-64. doi: 10.1097/00000542-199212000-00017.

Muthubharathi BC, Gowripriya T, Balamurugan K. Metabolomics: small molecules that matter more. *Mol Omics*. 2021;17:210-29. doi: 10.1039/d0mo00176g.

Nogi T, Uranishi K, Suzuki A, Hirasaki M, Nakamura T, Kazama T, et al. Similarity and dissimilarity in alterations of the gene expression profile associated with inhalational anesthesia between sevoflurane and desflurane. *PLoS One*. 2024;19(3):e0298264. doi: 10.1371/journal.pone.0298264.

Nummela AJ, Laaksonen LT, Laitio TT, Kallionpää RE, Långsjö JW, Scheinin JM, et al. Effects of dexmedetomidine, propofol, sevoflurane and S-ketamine on the human metabolome: a randomised trial using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Eur J Anaesthesiol*. 2022;39(6):521-32. doi: 10.1097/EJA.0000000000001591.

Odeh D, Oršolić N, Adrović E, Gaćina L, Perić P, Odeh S, et al. Effects of volatile anaesthetics and iron dextran on chronic inflammation and antioxidant defense system in rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(4):708. doi: 10.3390/antiox11040708.

OECD. OECD guidelines for the testing of chemicals. Teste No. 489: in vivo mammalian alkaline comet assay [Internet]. Paris: OECD Publishig; 2016 [citado 9 Jun 2026]. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-489-in-vivo-mammalian-alkaline-comet>

OECD. OECD guidelines for the testing of chemicals. Teste No. 433: acute inhalation toxicity - fixed concentration procedure [Internet]. Paris: OECD Publishig; 2018 [citado 9 Jun 2026]. Disponível em: https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-433-acute-inhalation-toxicity-fixed-concentration-procedure_9789264284166-en.

Ohe Y, Iijima N, Kadota K, Sakamoto A, Ozawa H. The general anesthetic sevoflurane affects the expression of clock gene mPer2 accompanying the change of NAD⁺ level in the suprachiasmatic nucleus of mice. *Neurosci Lett*. 2011;490(3):231-6. doi: 10.1016/j.neulet.2010.12.059.

Ong Sio LCL, Dela Cruz RGC, Bautista AF. Sevoflurane and renal function: a meta-analysis of randomized trials. *Med Gas Res*. 2017;7(3):186-93. doi: 10.4103/2045-9912.215748.

Orosz JE, Braz LG, Ferreira AL, Amorim RB, Salvadori DM, Yeum KJ, et al. Balanced anesthesia with sevoflurane does not alter redox status in patients undergoing surgical procedures. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2014;773:29-33. doi: 10.1016/j.mrgentox.2014.07.007.

Overmyer KA, Thonusin C, Qi NR, Burant CF, Evans CR. Impact of anesthesia and euthanasia on metabolomics of mammalian tissues: studies in a C57BL/6J mouse model. *PLoS One*. 2015;10(2):e0117232. doi: 10.1371/journal.pone.0117232.

Patel SS, Goa KL. Sevoflurane. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its clinical use in general anaesthesia. *Drugs*. 1996;51(4):658-700. doi: 10.2165/00003495-199651040-00009.

Pilarz A, Brzoza J, Tomsia M. The impact of anesthetics on the transcriptome. *Ann Acad Med Siles*. 2025;79:119-31. doi: 10.18794/aams/200908.

- Qiu L, Li H, Li B, Ek J, Zhang X, Chen Y, et al. Sevoflurane exposure in early life: mitochondrial dysfunction and neurotoxicity in immature rat brains without long-term memory loss. *Sci Rep*. 2024;14(1):28747. doi: 10.1038/s41598-024-79150-3.
- Ramirez T, Daneshian M, Kamp H, Bois FY, Clench MR, Coen M, et al. Metabolomics in toxicology and preclinical research. *ALTEX*. 2013;30(2):209-25. doi: 10.14573/altex.2013.2.209.
- Robertson DG, Watkins PB, Reily MD. Metabolomics in toxicology: preclinical and clinical applications. *Toxicol Sci*. 2011;120 Suppl 1:S146-70. doi: 10.1093/toxsci/kfq358.
- Rocha TL, Dias-Junior CA, Possomato-Vieira JS, Gonçalves-Rizzi VH, Nogueira FR, Souza KM, et al. Sevoflurane induces DNA damage whereas isoflurane leads to higher antioxidative status in anesthetized rats. *Biomed Res Int*. 2015;2015:264971. doi: 10.1155/2015/264971.
- Sakamoto A, Imai J, Nishikawa A, Honma R, Ito E, Yanagisawa Y, et al. Influence of inhalation anesthesia assessed by comprehensive gene expression profiling. *Gene*. 2005;356:39-48. doi: 10.1016/j.gene.2005.03.022.
- Shu Y, Bai L, Yu S, Li Y. Deciphering sevoflurane-induced neurotoxicity: from isolated targets to intricate regulatory networks. *Front Neurosci*. 2025;19:1646246. doi: 10.3389/fnins.2025.1646246.
- Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. *Redox Biol*. 2017;11:613-9. doi: 10.1016/j.redox.2016.12.035.
- Sies H. Oxidative eustress and oxidative distress: introductory remarks. In: Sies H, editor. *Oxidative Stress*. Academic Press; 2020. p. 3-12. doi: 10.1016/B978-0-12-818606-0.00001-8.
- Silva MAP, Braz LG, Braz JRC, Braz MG. Modulation of gene expression and inflammation but not DNA damage after sevoflurane anesthesia. *Environ Mol Mutagen*. 2023;64(5):315-20. doi: 10.1002/em.22539.
- Sonner JM, Gong D, Li J, Eger EI 2nd, Laster MJ. Mouse strain modestly influences minimum alveolar anesthetic concentration and convulsivity of inhaled compounds. *Anesth Analg*. 1999;89(4):1030-4. doi: 10.1097/00000539-199910000-00039.
- Steffey EP, Mama KR, Brosnan RJ. Inhalation anesthetics. In: Grimm KA, Lumb WV, Jones EW, editors. *Veterinary anesthesia and analgesia: the fifth edition of Lumb and Jones*. 5th ed. Ames: Wiley; 2015. p. 297-331.
- Takemori K, Kobayashi K, Sakamoto A. Expression of pulmonary vasoactive factors after sevoflurane anaesthesia in rats: a quantitative real-time polymerase chain reaction study. *Br J Anaesth*. 2008;100(2):190-4. doi: 10.1093/bja/aem347.
- Thornalley PJ. Protein and nucleotide damage by glyoxal and methylglyoxal in physiological systems-role in ageing and disease. *Drug Metabol Drug Interact*. 2008;23(1/2):125-50. doi: 10.1515/dmdi.2008.23.1-2.125.
- Tranfo G. The Growing importance of the human biomonitoring of exposure. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(11):3934. doi: 10.3390/ijerph17113934.

Tug T, Duda JC, Menssen M, Bruce SW, Bringezu F, Dammann M, et al. In vivo alkaline comet assay: statistical considerations on historical negative and positive control data. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2024;148:105583. doi: 10.1016/j.yrtph.2024.105583.

Türkan H, Aydin A, Sayal A, Eken A, Akay C, Karahalil B. Oxidative and antioxidative effects of desflurane and sevoflurane on rat tissue in vivo. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2011;62(2):113-9. doi: 10.2478/10004-1254-62-2011-2096.

U.S. Food and Drug Administration. Ultane® (sevoflurane) label [Internet]. Silver Spring: FDA; 2025 [citado 5 Jun 2026]. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2025/020478s035lbl.pdf

Wallin RF, Regan BM, Napoli MD, Stern IJ. Sevoflurane: a new inhalational anesthetic agent. *Anesth Analg*. 1975;54(6):758-66. doi: 10.1213/00000539-197511000-00021.

Wang T, Wu X, Zhao X, Li J, Yu J, Sheng M, et al. Sevoflurane alters serum metabolites in elders and aging mice and increases inflammation in hippocampus. *J Inflamm Res*. 2024;17:1241-53. doi: 10.2147/JIR.S448959.

Wei Y, Zhang D, Liu J, Ou M, Liang P, Zuo Y, et al. Effects of sevoflurane anesthesia and abdominal surgery on the systemic metabolome: a prospective observational study. *BMC Anesthesiol*. 2021;21:80. doi: 10.1186/s12871-021-01301-0.

Wishart DS. Systems biology resources arising from the human metabolome project. In: Suhre K, editor. *Genetics meets metabolomics: from experiment to systems biology*. New York: Springer; 2012. p. 157-75.

Wishart DS. Metabolomics for investigating physiological and pathophysiological processes. *Physiol Rev*. 2019;99(4):1819-75. doi: 10.1152/physrev.00035.2018.

Wong CH, Liu TZ, Chye SM, Lu FJ, Liu YC, Lin ZC, et al. Sevoflurane-induced oxidative stress and cellular injury in human peripheral polymorphonuclear neutrophils. *Food Chem Toxicol*. 2006;44(8):1399-407. doi: 10.1016/j.fct.2006.03.004.

Xu Y, Zhang N, Chen C, Xu X, Luo A, Yan Y, et al. Sevoflurane induces ferroptosis of glioma cells through activating the ATF4-CHAC1 pathway. *Front Oncol*. 2022;12:859621. doi: 10.3389/fonc.2022.859621.

Xu Z, Qian B. Sevoflurane anesthesia-mediated oxidative stress and cognitive impairment in hippocampal neurons of old rats can be ameliorated by expression of brain derived neurotrophic factor. *Neurosci Lett*. 2020;721:134785. doi: 10.1016/j.neulet.2020.134785.

Yang X, Huang L, Zhang Y, Wang K, Liu S, Li X, et al. Untargeted metabolomics and mendelian randomization analysis identify alpha-linolenic acid and linoleic acid as novel biomarkers of perioperative neurocognitive dysfunction. *Clin Nutr*. 2024;43:2198-10. doi: 10.1016/j.clnu.2024.07.039.

Yasuda N, Targ AG, Eger EI 2nd. Solubility of I-653, sevoflurane, isoflurane, and halothane in human tissues. *Anesth Analg*. 1989;69:370-3.

Yousefzadeh M, Henpita C, Vyas R, Soto-Palma C, Robbins P, Niedernhofer L. DNA damage-how and why we age? *Elife*. 2021;10:e62852. doi: 10.7554/eLife.62852.

Zhao Y, Ma S, Liang L, Cao S, Fan Z, He D, et al. Gut microbiota-metabolite-brain axis reconstitution reverses sevoflurane-induced social and synaptic deficits in neonatal mice. *Research (Wash D C)*. 2024;7:0482. doi: 10.34133/research.0482.

Zhou T, Chou J, Watkins PB, Kaufmann WK. Toxicogenomics: transcription profiling for toxicology assessment. *EXS*. 2009;99:325-66. doi: 10.1007/978-3-7643-8336-7_12.

Zhu H, Jia Z, Zhang L, Yamamoto M, Misra HP, Trush MA, et al. Antioxidants and phase 2 enzymes in macrophages: regulation by Nrf2 signaling and protection against oxidative and electrophilic stress. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008;233(4):463-74. doi: 10.3181/0711-RM-304.