

Fábio Geraldo Curtis

**Sevoflurano e dexmedetomidina em
isquemia e reperfusão renais no rato**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de
Botucatu, Unesp, para obtenção do título de
Doutor.

Profª Titular Yara Marcondes Machado Castiglia

Orientadora

Botucatu – SP

2008

Dedico esta tese à minha esposa, Joslei,
pela compreensão durante as minhas ausências
para a realização deste estudo e pelo suporte
emocional que me ofereceu para que alcançasse
este sonho.

Às minhas filhas, Mariana e Isabela, que
ainda não entendem o significado desta meta
alcançada, mas que um dia irão se orgulhar
deste feito.

À minha mãe, Olga, e a meu irmão, João
Antonio, por estarem a todo momento
torcendo por mim.

A Profª Titular Vera Marcondes Machado Castiglia, a quem sempre admirei e respeitei por sua qualidade profissional e com quem tive a felicidade de conviver nos últimos sete anos.

Nesse tempo de convívio, pude encontrar nela mais do que uma excelente orientadora para a realização deste estudo; encontrei sua dedicação, seu apoio, sua paciência, sua determinação e sua amizade.

Quando se fez necessário, foi enérgica. Quando o momento exigia compreensão, foi mais que benevolente.

Meu agradecimento por tão honrosa orientação e por não ter duvidado da minha capacidade.

“Aquele que caminha sozinho pode até chegar mais rápido... Mas aquele que vai acompanhado com certeza chegará mais longe”

Agradeço às pessoas que de alguma maneira, direta ou indiretamente, influenciaram e me ajudaram na realização desta tese e, em particular,

a todos os docentes do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu e, em especial, ao Prof. Dr Pedro Thadeu Galvão Vianna, por sua amizade e pelos comentários e sugestões;

ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu e, em especial, à Prof^ª Dr^ª Rosa Marlene Viero, responsável pela análise histológica;

à Prof^ª Dr^ª Lídia Raquel de Carvalho, pela realização da análise estatística;

aos Srs Cristiano Corrêa de Oliveira e Jurandir Antonio, funcionários do Laboratório Experimental de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, pela participação e dedicação na realização desta pesquisa;

aos funcionários da secretaria e do serviço de computação do Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, Sr^ª Joana Jacirene Costa Teixeira (Dona Jô), Srt^ª Neli Aparecida Pavan, Sr^ª Sonia Maria Martins da Silva e Sr Danilo Claudio de Godoy, que nunca me negaram auxílio;

*ao Acadêmico Paulo Mateus Fiorio Pereira,
pelo auxílio e dedicação no desenvolvimento
e realização deste estudo;*

*à CAPES – Coordenação de
Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
Superior, pela concessão de Bolsa de
Doutorado;*

aos meus familiares.

Curtis FG. Sevoflurano e dexmedetomidina em isquemia e reperfusão renais no rato. Botucatu, 2008. 66p. Doutorado em Anestesiologia. Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Justificativa e Objetivos – O fenômeno conhecido por pré-condicionamento isquêmico, de proteção cardíaca, também foi observado no rim e assemelha-se àquele obtido com alguns fármacos, como anestésicos inalatórios e alguns venosos. Pesquisou-se o possível pré-condicionamento farmacológico do anestésico inalatório sevoflurano e do agonista α_2 -adrenérgico dexmedetomidina, avaliando função e histologia renais de ratos anestesiados com S(+)-cetamina e submetidos à nefrectomia direita (D) e ao clampeamento arterial do rim esquerdo (E) por 45 minutos, com reperfusão de 48 horas.

Método – Quarenta ratos *Wistar* machos, anestesiados com S(+)-cetamina intraperitoneal (ip) foram divididos em quatro grupos de 10 animais, mantidos em normotermia (36°C-38°C), com pressão arterial média e frequência cardíaca monitoradas, tendo sido nefrectomizados à D. Dois grupos receberam, também, sevoflurano (Sevo) ou dexmedetomidina (Dex) intravenosa (iv) e a artéria renal E foi clampeada durante 45 min, após administração dos fármacos por período mínimo de 20 min. Um terceiro e quarto grupos foram anestesiados com doses intermitentes de S(+)-cetamina iv e submetidos à isquemia renal E por 45 min (Controle) ou permaneceram sem clampeamento arterial E (*Sham*). A creatinina plasmática foi obtida antes da isquemia renal (M1) e 48 h após a isquemia (M2), quando se realizou nefrectomia E sob anestesia com pentobarbital sódico que também serviu para o sacrifício dos animais. Todos os rins foram submetidos à análise histológica e as lesões encontradas foram classificadas em escores. Houve tratamento estatístico para os valores de creatinina plasmática e para a análise histológica.

Resultados – Obteve-se creatinina plasmática em M2 > M1, mas sem significância nos grupos *Sham* e Sevo. Entre os grupos, Controle > Dex > Sevo

> *Sham*, significativamente. Os rins D não diferiram entre eles para todas as alterações histológicas estudadas. Escores de dilatação vascular foram significativamente maiores nos rins E do Controle, em relação aos D. Entre grupos, Controle = Dex = Sevo > *Sham*, significativamente. Comparados aos D, os rins E dos grupos Controle e Dex apresentaram escores significativamente maiores de congestão vascular. Entre grupos, Controle = Dex > Sevo > *Sham*, significativamente. Os rins E dos grupos Controle, Sevo e Dex apresentaram escores significativamente maiores de dilatação tubular que os D. Entre grupos, Controle = Dex = Sevo > *Sham*, significativamente. Observaram-se rins E com menos degeneração tubular que os D no grupo Controle. Entre grupos, Controle = Dex = Sevo = *Sham*, significativamente. Quanto à necrose, os rins E dos grupos Controle, Sevo e Dex apresentaram escores significativamente maiores que os rins D. Entre grupos, Controle = Dex = Sevo > *Sham*, significativamente.

Conclusão – Para rins de ratos submetidos à isquemia e reperfusão, o sevoflurano foi mais benéfico que a dexmedetomidina, do ponto de vista funcional e histológico, sendo que a S(+)-cetamina foi o fármaco que mais se associou à disfunção e às alterações histológicas do órgão.

Palavras-chave: Analgésico; Dexmedetomidina; Anestésicos; Sevoflurano; S(+)-cetamina; Isquemia e Reperfusão; Rim; Rato

Curtis FG. Sevoflurane and dexmedetomidine in ischemia and reperfusion injury in the rat kidney. Botucatu, 2008. 66p. Doutorado em Anestesiologia. Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

Background and Objectives – The phenomenon known as ischemic preconditioning, of heart protection, was also observed in the kidney and it was similar to that one obtained with some drugs such as the volatile anesthetics and other intravenous agents. The possible pharmacological preconditioning of the volatile anesthetic sevoflurane as well as the α_2 -adrenergic agonist dexmedetomidine were investigated, evaluating both renal function and histology of rats anesthetized with S(+)-ketamine and submitted to right (R) nephrectomy and left (L) renal artery clamping for 45 minutes, with 48 hour reperfusion.

Methods – Forty male *Wistar* rats anesthetized with intraperitoneal (ip) S(+)-ketamine were divided into four groups of 10 animals, maintained in normotermia (36°C-38°C), with mean arterial blood pressure and heart rate monitored, having been R nephrectomy. Two groups also received sevoflurane (Sevo) or intravenous (iv) dexmedetomidine (Dex) and had L renal artery clamping for 45 min, after respective drug administration about 20 min period at least. The third and fourth groups were anesthetized with iv intermittent doses of S(+)-ketamine and submitted to L renal artery clamping for 45 min (Control) or remained without L arterial clamping (*Sham*). Blood creatinine was obtained before the renal ischemia (M1) and with 48h of reperfusion (M2), when L nephrectomy was performed under anesthesia with ip sodium pentobarbital of which the overdose was used to sacrifice the animals. All kidneys were submitted to the histological analysis and the found lesions were classified in scores. Statistical analysis was performed for blood creatinine and histological changes.

Results – Blood creatinine in M2 > M1, but with no significance in *Sham* and Sevo groups. Comparing groups, Control > Dex > Sevo > *Sham*, significantly. The R kidneys did not differ in all studied histological changes. Scores of vascular dilation were significantly higher in L kidneys of the Control group than in R kidneys. Comparing groups, Control = Dex = Sevo > *Sham*, significantly. Left kidneys of Control and Dex groups presented significantly higher scores of vascular congestion than R kidneys. Comparing groups, Control = Dex > Sevo > *Sham*, significantly. Left kidneys of Control, Sevo and Dex groups presented significantly higher scores of tubular dilation than R kidneys. Comparing groups, Control = Dex = Sevo > *Sham*, significantly. Left kidneys were observed with less tubular degeneration than R kidneys in the Control group. Comparing groups, Control = Dex = Sevo = *Sham*, significantly. Left kidneys of Control, Sevo and Dex groups presented significantly higher scores of necrosis than R kidneys. Comparing groups, Control = Dex = Sevo > *Sham*, significantly.

Conclusion – In the rat kidneys submitted to ischemia and reperfusion injury, sevoflurane was more protective than dexmedetomidine, according to functional and histological aspects, whereas S(+)-ketamine was the more associated drug with both renal dysfunction and histological changes.

Keywords: Analgesic; Dexmedetomidine; Anesthetics; Sevoflurane; S(+) ketamine; Ischemia and Reperfusion; Kidney; Rat.

SUMÁRIO

Introdução.....	14
Objetivo.....	26
Material e Método.....	27
Grupos experimentais.....	27
Seqüência experimental.....	28
Atributos estudados.....	31
Análise estatística.....	32
Resultados.....	33
Discussão.....	43
Considerações finais.....	54
Conclusão.....	55
Referências.....	56
Anexos.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Peso (g) dos ratos. Média e desvio padrão dos quatro grupos.....	35
Tabela 2	Média e desvio padrão referentes à creatinina plasmática (mg%) segundo momento (M1 e M2) e grupo.....	36
Tabela 3	Histologia renal dos animais dos grupos Controle, <i>Sham</i> , Sevo e Dex.....	37
Tabela 3a	Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de dilatação vascular segundo grupo e rim.....	38
Tabela 3b	Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de congestão vascular segundo grupo e rim.....	39
Tabela 3c	Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de dilatação tubular segundo grupo e rim.....	40
Tabela 3d	Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de degeneração tubular segundo grupo e rim.....	41
Tabela 3e	Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de necrose segundo grupo e rim.....	42
Tabela 4	Peso, em gramas, de cada rato dos grupos Sevo, Dex, <i>Sham</i> e Controle. Média e desvio padrão são apresentados.....	65
Tabela 5	Valores da creatinina plasmática, em MG.dL^{-1} , de cada rato dos grupos Sevo, Dex, <i>Sham</i> e Controle. Média e desvio padrão são apresentados.....	66

LISTA DE FIGURAS

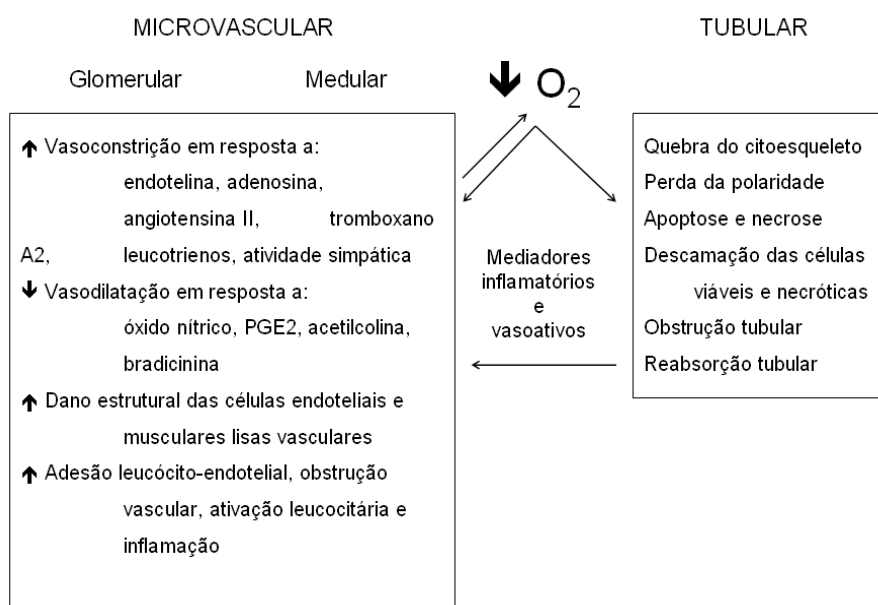
Figura 1	Creatinina plasmática nos dois momentos nos quatro grupos de estudo.....	36
Figura 2	Congestão de vasos retos de um rim do grupo Dex. HE40x.....	39
Figura 3	Dilatação vascular e tubular de um rim do grupo Sevo. HE-40x.....	40
Figura 4	Degeneração tubular leve de um rim do grupo Sevo. HE-40x.....	41
Figura 5	Necrose intensa de um rim do grupo Dex. HE-40x.....	42

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Fisiopatologia da insuficiência renal aguda....	14
Esquema 2	Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento isquêmico clássico (PCIC).....	17
Esquema 3	Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento isquêmico tardio (PCIT)..	17
Esquema 4	Interação entre neutrófilos e endotélio em condições normais e isquêmicas.....	19

Introdução

Comparados com outros órgãos, os rins são particularmente sensíveis à isquemia. Isquemia ou hipotensão grave são causas de insuficiência renal aguda (IRA) (Esquema 1), que está associada à elevada morbidade e mortalidade de pacientes (Star, 1998; Abernethy & Lieberthal, 2002). Portanto, melhor habilidade do rim em tolerar a lesão de isquemia e da posterior reperfusão teria importantes implicações.



Esquema 1 – Fisiopatologia da insuficiência renal aguda (Bonventre & Weinberg, 2003).

A IRA é um problema clínico frequentemente associado a procedimentos cirúrgicos, como transplante renal ou aneurisma da aorta, que induzem lesão de isquemia e reperfusão no rim. Alterações na hemodinâmica intra-operatória levam a vasoconstrição renal e hipoperfusão. A ação de fármacos anestésicos diante dessa situação muito tem sido investigada.

Até há pouco tempo quase não se tinha conhecimento sobre a resposta dos órgãos e tecidos frente a períodos de privação do fluxo sangüíneo (isquemia). E também sobre o que acontecia logo após esta situação ser revertida (reperfusão). Em 1986, Murry et al. publicaram um estudo que se tornou referência para pesquisas sobre proteção de órgãos. Os pesquisadores descreveram que breves períodos de isquemia tornaram o miocárdio de cães resistente a período isquêmico subsequente e prolongado. Este fenômeno, desde então, ficou conhecido como “pré-condicionamento isquêmico” (PCI). Nessa pesquisa, quatro ciclos de 5 minutos de oclusão coronariana prévios a 40 minutos de oclusão reduziram em 75% o tamanho do infarto induzido, com relação ao grupo controle (submetido apenas à oclusão de 40 minutos). Contudo, o efeito redutor do infarto perdia-se quando três horas de oclusão eram aplicadas, enfatizando que a reperfusão oportuna é indispensável para limitar o dano miocárdico no PCI.

Embora a reperfusão seja essencial para as células sobreviverem ao período de isquemia e reassumirem sua função normal, compreende-se que ela pode acelerar a morte celular, que é conhecida como lesão de reperfusão. Isto ocorre porque parte das células potencialmente viáveis pode não se recuperar integralmente, evoluindo para lesão irreversível (Heyndrickx, 2006).

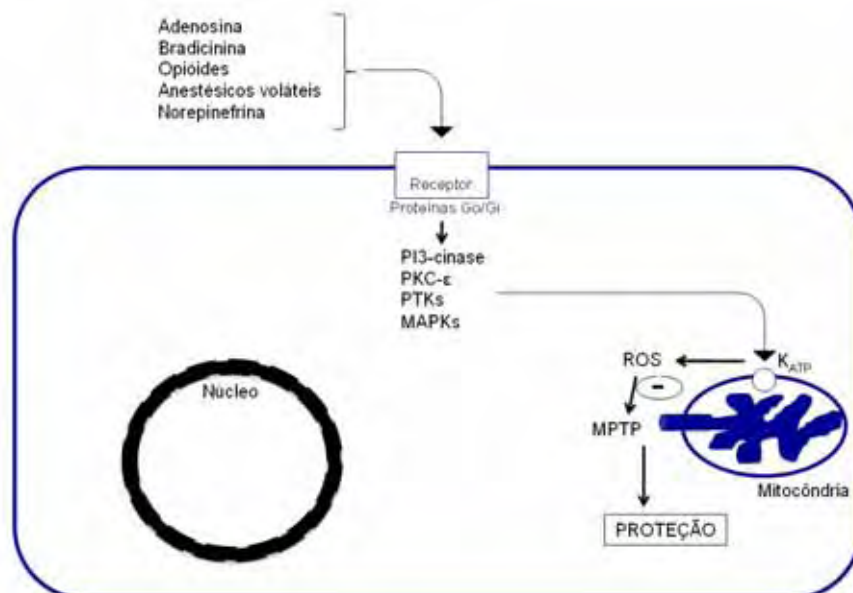
O termo PCI refere-se, portanto, a fenômeno paradoxal no qual o pré-tratamento com um estímulo potencialmente nocivo pode aumentar a tolerância celular a estímulo nocivo subsequente. Assim, o PCI ficou definido como aumento da tolerância à isquemia e reperfusão induzido por breves períodos subletais de isquemia. Desde então, vasto número de estudos tem investigado o PCI com o objetivo principal de explorar este poderoso mecanismo protetor na prática clínica.

A proteção do PCI foi observada em outras espécies animais, como ratos (Barbosa et al., 1996) e coelhos (Cohen et al., 2000) e em outros órgãos, como o rim (Pell et al., 1998; Lee & Emala, 2000), o fígado (Koti et al., 2003), o intestino (Gho et al., 1996) e o cérebro (Bernaudin et al., 2002). Além

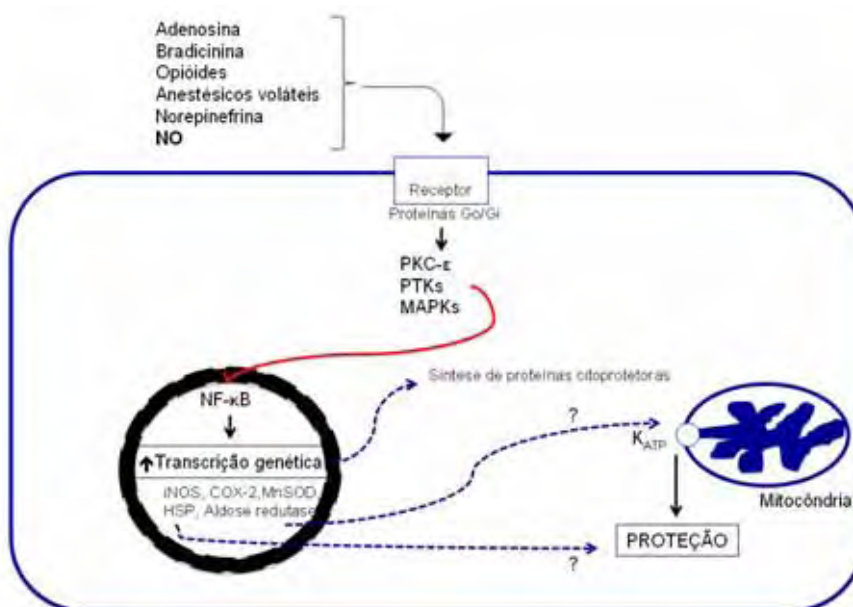
disso, o PCI foi capaz de proteger células e órgãos distantes que não foram pré-condicionados (“pré-condicionamento isquêmico distante”) (Gho et al., 1996).

É fundamental compreender que a maioria dos estudos sobre PCI foi realizada em modelos animais e que diferenças relacionadas ao mecanismo de proteção entre as espécies podem existir. Estudos *in vitro* e *in vivo* no homem foram desenvolvidos, utilizando alguns marcadores para estudar o efeito do PCI sobre o miocárdio (Kloner et al., 2002).

Didaticamente, o PCI oferece duas janelas de proteção no tempo, conhecidas como pré-condicionamento “clássico” (PCIC), ou “precoces”, e pré-condicionamento “tardio” (PCIT), “retardado”, ou segunda janela de proteção. O PCIC inicia-se em minutos após a agressão isquêmica e perdura por uma a duas horas. Nesta fase, os eventos desencadeados pela isquemia resultam na abertura dos canais de potássio sensíveis à adenosina trifosfato (K_{ATP}) e preservam os níveis intracelulares de ATP. Já o PCIT inicia-se entre 12 e 24 horas após a isquemia e tem duração de aproximadamente 72 horas. Nesta fase, além dos eventos da fase inicial, ocorre síntese de proteínas citoprotetoras (Riksen et al., 2004a) (Esquemas 2 e 3).



Esquema 2 – Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento isquêmico clássico (PCIC) (Riksen et al., 2004a).



Esquema 3 – Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento isquêmico tardio (PCIT) (Riksen et al., 2004a).

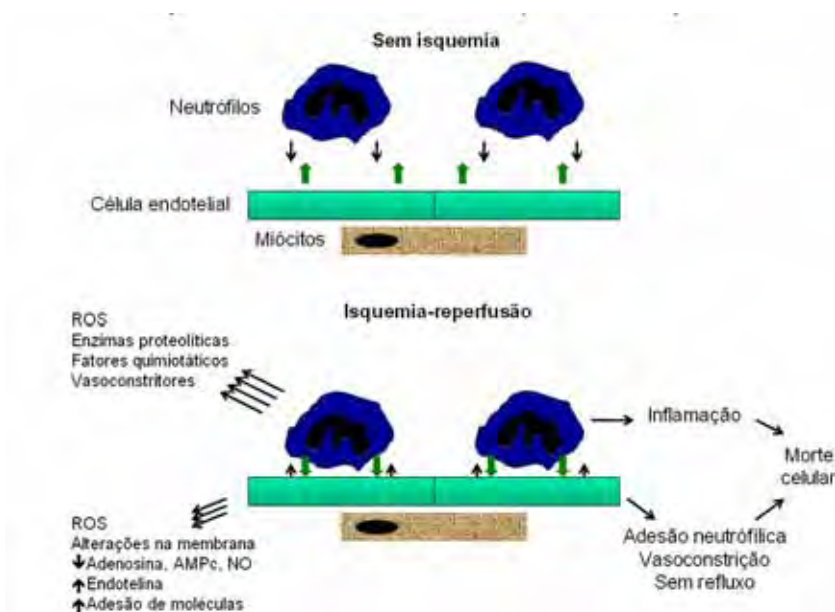
O nucleosídeo endógeno, adenosina, além de ter sido o primeiro “gatilho” identificado na proteção, é o mais importante ativador dos receptores celulares do pré-condicionamento isquêmico. Sua concentração no interstício do miocárdio eleva-se rapidamente durante a isquemia e sua infusão intracoronariana, na vigência do PCI, pode duplicar a proteção miocárdica em cães (Yao & Gross, 1994). Já o bloqueio dos receptores da adenosina (Van Winkle et al., 1994), bem como a inibição da 5'-nucleosidase (Kitakaze et al., 1994), que é responsável pela geração de adenosina e marcador da atividade da proteína cinase C (Belhomme et al., 1999), impede o pré-condicionamento. A administração prévia de um inibidor da captação da adenosina, o dipiridamol, reduz significativamente o tamanho do infarto e auxilia o efeito do PCI (Miura et al., 1992).

Em 1991, foi descoberto (Liu et al.) que o estímulo do receptor da adenosina A_1 da membrana celular, durante o PCI, é essencial para a proteção ocorrer. E, ainda, que a administração intravenosa de agonistas seletivos desse receptor (A_1) confere proteção semelhante à da adenosina endógena (fenômeno conhecido como pré-condicionamento farmacológico, PCF) (Thornton et al., 1992). A estimulação *in vitro* e *in vivo* de outro receptor da adenosina, o A_3 , também parece contribuir para o PCI (Lee & Emala, 2000).

Outras substâncias liberadas durante o PCI, como bradicinina (Goto et al., 1995), norepinefrina (Hu & Nattel, 1995), agonistas dos receptores opióides delta 1 (Schultz et al., 1998) e espécies reativas de oxigênio (ROS) (Baines et al., 1997), por sua ação nos receptores da membrana celular, contribuem para a redução do infarto em animais. A elevação transitória do cálcio durante o PCI também parece contribuir para a proteção observada (Miyawaki & Ashraf, 1997). De modo paradoxal, a geração de ROS contribui, durante a isquemia e reperfusão, para a lesão celular (O'Rourke, 2004).

A lesão de isquemia e reperfusão é processo complexo que envolve geração e liberação de citocinas inflamatórias, acúmulo e infiltração de neutrófilos (leucócitos polimorfonucleares) e morte celular (Bonventre & Weinberg, 2003). Durante a isquemia, algumas moléculas conhecidas como

moléculas de adesão intercelular começam a se expressar. Estas moléculas promovem adesão de neutrófilos e plaquetas na parede do vaso isquêmico, assim como a migração de neutrófilos para o tecido intersticial. O acúmulo de neutrófilos e plaquetas na parede do vaso resulta em obstrução microvascular (isquemia). Os neutrófilos fora dos vasos liberam enzimas, citocinas e substâncias pró-inflamatórias com piora da lesão endotelial, da musculatura lisa e dos miócitos (Malbouisson et al., 2005) (Esquema 4).



Esquema 4 – Interação entre neutrófilos e endotélio em condições normais e isquêmicas (Heyndrickx, 2006).

Uma das maiores características da proteção endotelial pelo PCI ou pelos anestésicos é geração de óxido nítrico (NO) e conseqüente vasodilatação (Bouchard & Lamontagne, 1996). A presença do NO não é somente importante por regular o tono vascular, mas também por sua capacidade de prevenir adesão e migração de neutrófilos para dentro dos tecidos durante a reperfusão. O acúmulo de neutrófilos contribui para o fenômeno pós-isquêmico de “ausência de fluxo”, disfunção do órgão e necrose tecidual (Heyndrickx, 2006). Além disso, a isquemia pode induzir expressão de uma variedade de marcadores de superfície celular (selectina e molécula de

adesão intercelular) e mediadores inflamatórios (fator de necrose tumoral) que contribuem para o acúmulo de neutrófilos. Embora a administração exógena de doadores do NO, prévia à isquemia, possa limitar o tamanho do infarto, a sintase do NO (iNOS), derivada do NO endógeno, provavelmente não está envolvida no PCIC (Bolli, 2001).

O estímulo dos receptores da membrana celular (fase de gatilho) ativa uma cascata de sinalização de eventos intracelulares através de segundos mensageiros, acoplados à proteína G, que convergem na estimulação da proteína cinase C (PKC), proteína-chave do pré-condicionamento (Ytrehus et al., 1994; Mitchell et al., 1995). A ativação da enzima PKC é fundamental para o pré-condicionamento isquêmico, pois ela ativa as vias de transdução de sinais intracelulares que resultam em proteção - abertura dos canais K_{ATP} do sarcolema ($sarcK_{ATP}$) e da membrana interna mitocondrial ($mitoK_{ATP}$) - e, ainda, através da transcrição genética, promove a síntese de proteínas citoprotetoras. Inicialmente os canais $sarcK_{ATP}$ foram considerados responsáveis pela proteção celular, mas recentes evidências (Oldenburg et al., 2002; Gross & Peart, 2003; O'Rourke, 2004) favorecem cada vez mais o papel dos canais $mitoK_{ATP}$. O PCI seria, então, iniciado pela abertura do canal $mitoK_{ATP}$ e impedido pelo seu bloqueio (Garlid et al., 1997).

Os canais K_{ATP} ($sarcK_{ATP}$ e $mitoK_{ATP}$) têm diferentes perfis farmacológicos. Ambos são bloqueados pela administração da glibenclamida antes ou imediatamente após a isquemia (Gross & Auchampach, 1992), enquanto o canal $mitoK_{ATP}$ é seletivamente bloqueado pelo 5-hidroxidecanoato (5-HD), inibindo a proteção (Auchampach et al., 1992). A administração de diazóxido é capaz de mimetizar o PCI (Garlid et al., 1997), uma vez que esse fármaco determina abertura do canal $mitoK_{ATP}$, apresentando maior afinidade por este que pelo canal $sarcK_{ATP}$.

A enzima fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K) é importante molécula sinalizadora (via de transdução) intracelular. Quando ativada pelos receptores acoplados à proteína G, ativa, por sua vez, a proteína cinase C

(PKC). A ativação e a transdução da isoforma PKC- ϵ parecem ser responsáveis pelo PCI (Gray et al., 1997).

Por estimularem a atividade da PKC, a endotelina-I (Wang et al., 1996), a acetilcolina (Cohen et al., 2001) e a angiotensina II (Liu et al., 1995) poderiam funcionar como gatilhos; contudo, essas substâncias não são liberadas em quantidades suficientes durante a isquemia para contribuir com a proteção (Riksen et al., 2004a).

As cinases de proteínas ativadas por mitógenos (CPAMs), a cinase de receptor extracelular (ERK) e a cinase *c-jun* cinase (JNK) também estão envolvidas na cascata de sinalização do pré-condicionamento isquêmico (Michel et al., 2001; Armstrong, 2004). Elas modulam a resposta das células a uma grande variedade de estímulos fisiológicos relacionados ao estresse, incluindo luz ultravioleta, isquemia e reperfusão e hiperosmolalidade. As CPAMs (JNK, p38 e ERK), as serinas e as treoninas afetam a expressão genética, a mitose, a citocinética e a sobrevivência celular (necrose e apoptose) (Johnson & Lapadat, 2002).

A mitocôndria desempenha, ainda, papel importante durante a reperfusão, por fornecer, nessa fase, energia (na forma de ATP) para a célula. Estudos demonstraram redução significativa no tamanho do infarto utilizando inibidores da apoptose durante a reperfusão, como inibidores da caspase (Zhao et al., 2003).

O poro de transição de permeabilidade mitocondrial (MPTP) é formado por complexas proteínas capazes de transformar poros grandes e não-seletivos em membrana impermeável. Este poro permanece fechado durante a isquemia, abrindo-se durante a reperfusão (Griffiths & Halestrap, 1995). A elevação na concentração mitocondrial de Ca^{2+} , o estresse oxidativo (formação de ROS), a depleção de ATP e a despolarização mitocondrial, presentes durante a reperfusão, promovem abertura do MPTP (Halestrap et al., 2004). Foi demonstrado que sua abertura durante a reperfusão é inibida pela ciclosporina A.

Em estudo detalhado (Juhaszova et al., 2004), foi demonstrado que tanto o pré-condicionamento isquêmico como o farmacológico, por uma variedade de fármacos, agem inibindo a abertura do poro induzida pelas ROS durante a reperfusão o que esclarece em grande parte a cascata sinalizadora responsável pela inibição do poro.

O óxido nítrico é um importante gatilho na proteção celular tardia. Durante o pré-condicionamento isquêmico tardio, ocorre síntese de novas proteínas e aumento na transcrição de genes (no núcleo celular), necessários para a obtenção de proteção. Várias intervenções farmacológicas são hábeis para disparar a proteção tardia, simulando o PCI. A exposição breve aos agonistas seletivos dos receptores adenosina A₁ e A₃, os doadores de NO exógeno, as substâncias geradoras de ROS, a bradicinina, os agonistas δ -opiídeos e a norepinefrina fornecem proteção tardia ao infarto (Yellon & Downey, 2003).

Anualmente, milhões de pacientes são expostos aos anestésicos inalatórios. Além dos seus efeitos anestésicos, estes possuem significativos efeitos fisiológicos não-anestésicos. A cardioproteção pelos anestésicos voláteis não está associada à manutenção do equilíbrio entre a oferta e o consumo de oxigênio, e, sim, ao desencadeamento de uma série de alterações bioquímicas intracelulares simulando o pré-condicionamento isquêmico (Zaugg et al., 2002a). Fortes evidências sugerem que uma cascata protetora endógena pode ser ativada em outros órgãos pelo PCI ou pela administração de um anestésico (Xiong et al., 2003).

Zaugg et al. (2002b) resumiram os efeitos dos anestésicos com relação à atividade induzida pelo diazóxido sobre os canais mitoK_{ATP} em cardiomiócitos isolados de ratos adultos. O fentanil, sevoflurano e isoflurano determinaram potencialização da proteção, enquanto o tiopental sódico, pentobarbital sódico e *R*(-)-cetamina inibiram a proteção. Já alguns agentes, como etomidato, propofol, *S*(+)-cetamina e midazolam, não interferiram na proteção.

Em estudo multicêntrico, duplo-cego e controlado com placebo foram analisados os marcadores bioquímicos para a lesão e disfunção miocárdicas (peptídeo natriurético cerebral), necrose miocárdica (CK-MB) e disfunção renal (concentração plasmática da cistatina C) em pacientes submetidos à revascularização do miocárdio (Julier et al., 2003). Houve redução pós-operatória do peptídeo e a cistatina C elevou-se significativamente, menos nos pacientes pré-condicionados com sevoflurano. A função miocárdica apresentou melhora logo após a saída da circulação extracorpórea.

Dados sobre o pré-condicionamento farmacológico renal, porém, não são conclusivos até o momento, existindo evidências de que o PCI existe para o rim. Já foi demonstrado, em ratos, que o rim pode ser pré-condicionado para atenuar a lesão de isquemia e reperfusão e que a administração de adenosina prévia à isquemia protege a função renal por ação sobre os receptores A₁ (Lee & Emala, 2000).

Recente publicação (Obal et al., 2006) comparou os efeitos do pré-condicionamento farmacológico (com o sevoflurano) e isquêmico sobre a função renal e sua morfologia após episódios de isquemia e reperfusão. O rim direito foi retirado 14 dias antes do experimento. Os animais foram anestesiados com S(+)-cetamina (100 mg.kg⁻¹ por via intraperitoneal) e divididos em quatro grupos submetidos a diferentes protocolos: sem oclusão da artéria renal (*Sham*), 45 minutos de oclusão (Controle), apenas 15 minutos de administração de sevoflurano (1CAM) seguidos de 10 minutos de recuperação antes da oclusão arterial de 45 minutos (Sevo) e três episódios de dois minutos de isquemia prévios à oclusão de 45 minutos (Isquemia). As concentrações sanguíneas de creatinina foram obtidas durante a reperfusão e o dano morfológico foi avaliado três dias após a reperfusão. Os grupos Sevo e Isquemia apresentaram concentrações elevadas de creatinina. Os ratos do grupo Sevo apresentaram maiores escores de lesão celular e o túbulo proximal mostrou-se mais susceptível à lesão por isquemia e reperfusão.

A dexmedetomidina, um agonista α_2 , exibiu importante efeito neuroprotetor em modelos animais. Contudo, os efeitos celulares envolvidos nesta proteção ainda não estão completamente esclarecidos (Laundenbach et al., 2002). Dados recentes sustentam que a dexmedetomidina exerce seu efeito protetor diretamente sobre o receptor α_2 ligado à adenilciclase, que provoca alterações intracelulares, ao invés de indiretamente, com redução na liberação de glutamato ou catecolaminas (Engelhard et al., 2002). Em estudo também recente, o efeito de pré-condicionamento contra lesão isquêmica observado com a dexmedetomidina induziu sobrevivência celular em cortes de hipocampo de ratos privados de glicose e oxigênio (Dahmani et al., 2005).

Os receptores α_{2B} -adrenérgicos (α_{2B} -AR) estão acoplados a proteínas G em quase todo tipo celular. Em células cultivadas de túbulo proximal de ratos, a exposição aos α_2 -agonistas aumentou a atividade das cinases (ERK). A ativação das ERKs pelos α_{2B} -AR ocorre independentemente da inibição da adenilciclase ou da estimulação da PKC, mas correlaciona-se com o aumento da atividade da fosfolipase A_2 (cPLA₂). Parece que a ação das catecolaminas sobre o α_{2B} -AR pode ter importância na resposta adaptativa durante a lesão tecidual renal aguda (Cussac et al., 2002).

Marangoni et al. (2007) investigaram os efeitos da dexmedetomidina sobre a função e histologia renais de ratos, após hemorragia aguda de 30% da volemia com hipotensão. Os ratos foram divididos em dois grupos e anestesiados com pentobarbital sódico intraperitoneal. Em um grupo foi administrada a dexmedetomidina em infusão contínua e em outro, apenas o barbitúrico. A dexmedetomidina determinou melhor função renal, porém maior dilatação tubular no estudo histológico, quando comparada ao pentobarbital sódico.

Segundo revisão de Tanaka et al., 2004, evidências experimentais indicam que os anestésicos voláteis exercem importantes efeitos cardioprotetores que reduzem as consequências de dano reversível e irreversível de isquemia e reperfusão. Diferenças na eficácia de pré-condicionamento induzido por anestésicos e no tempo em que devem ser

administrados os anestésicos voláteis, isoladamente e em associação com outros fármacos cardioprotetores, ainda necessitam ser completamente discriminadas.

Portanto, o que se deduz do exame da literatura é que ainda se desconhece se o sevoflurano tem ou não ação de pré-condicionador farmacológico sobre o rim. Seria importante o período no qual é administrado? Na prática clínica, durante períodos de isquemia, no intra-operatório, não há interrupção de seu fornecimento, o qual continua também nos períodos iniciais da reperfusão. Parece mais adequado que os experimentos mimetizem este procedimento, diferentemente do que é apresentado na pesquisa de Obal et al., 2006. Por outro lado, a dexmedetomidina ainda não foi suficientemente estudada como agente coadjuvante de anestésicos, sendo suas ações e os efeitos de seu emprego ainda pouco elucidados. Para estudar a dexmedetomidina, há a necessidade de se anestesiarem os animais com anestésico venoso para a preparação do modelo. Escolheu-se a *S(+)*-cetamina porque na literatura há relato de que este fármaco não interfere na proteção do rim. Assim, como o sevoflurano e a dexmedetomidina são muito utilizados na prática clínica atual, seria pertinente o estudo comparativo dos mesmos antes e durante episódio de isquemia e reperfusão.

Objetivo

O objetivo desta pesquisa experimental foi avaliar o possível pré-condicionamento de duas classes de fármacos, um agonista α_2 -adrenérgico, dexmedetomidina, e um anestésico inalatório, sevoflurano, em rins de ratos anestesiados com *S*(+)-cetamina e submetidos à nefrectomia direita e ao clameamento da artéria renal esquerda por 45 minutos, com período de reperfusão de 48 horas.

Material e Método

Para a realização desta pesquisa, foi obtido o parecer favorável da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Este estudo foi desenvolvido com 40 ratos da raça *Wistar*, machos, com pesos superiores a 300g, fornecidos pelo Biotério Central do *Campus* de Botucatu, UNESP.

Grupos Experimentais

A indução anestésica de todos os animais foi realizada com *S(+)*-cetamina, 100 mg.kg^{-1} , por via intraperitoneal, e eles foram incluídos, aleatoriamente, em quatro grupos de estudo. Para prevenir a compensação do rim que sofreria isquemia, pelo rim sem isquemia, nefrectomia direita foi realizada em todos os grupos, logo após laparotomia mediana. Nos animais de dois dos quatro grupos formados (*Sevo* e *Dex*), logo após a nefrectomia direita, foi realizado clampeamento da artéria renal esquerda por período de 45 minutos, após administração dos fármacos correspondentes por período mínimo de 20 minutos. Um terceiro grupo (*Controle*) foi anestesiado com *S(+)*-cetamina e submetido também à isquemia renal esquerda por 45 minutos. O quarto grupo (*Sham*) foi anestesiado com *S(+)*-cetamina, tendo sido realizada apenas a nefrectomia direita, sem clampeamento arterial esquerdo.

Desse modo, os 40 ratos estudados foram incluídos em grupos de 10 animais cada um e assim formados, segundo o fármaco administrado para manutenção anestésica, durante todo o experimento.

Grupo Controle – S(+)-cetamina, 1 a 2 mg. kg⁻¹, por via intravenosa, quando necessário,

Grupo Sham – S(+)-cetamina, 1 a 2 mg. kg⁻¹, por via intravenosa, quando necessário,

Grupo Sevo – sevoflurano em concentração aproximada de uma concentração alveolar mínima (CAM), igual a 2,2%, e adequada conforme alterações da pressão arterial média ou da reação dos animais,

Grupo Dex – dexmedetomidina – solução de 1,0 µg. mL⁻¹ de NaCl 0,9% -, por via intravenosa, inicialmente administrada com velocidade de infusão de 1,0 µg. kg⁻¹ em 10 minutos, seguindo-se infusão contínua de 1,0 µg. kg⁻¹. h⁻¹, durante todo o experimento.

Seqüência Experimental

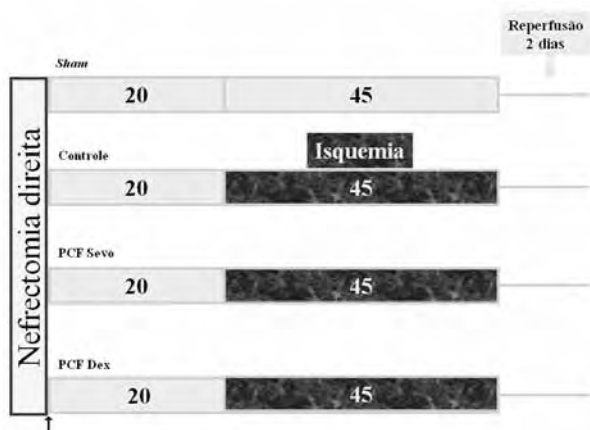
Os ratos foram submetidos à seguinte seqüência de preparo:

- 1) jejum alimentar;
- 2) pesagem dos animais;
- 3) indução anestésica com S(+)-cetamina, por via intraperitoneal, 100 mg.kg⁻¹;
- 4) após a instalação da anestesia, o animal foi colocado sobre e coberto com bolsa térmica pré-aquecida, com o objetivo de manter a temperatura corporal entre 36 e 38 °C;
- 5) colocação de termômetro de mercúrio no reto do animal;
- 6) manutenção dos animais dos três grupos em respiração espontânea com oxigênio suplementar, 1 L.min⁻¹, através de máscara acoplada ao seu focinho; somente no grupo Sevo, foi administrado o sevoflurano juntamente com o oxigênio;

- 7) dissecação e canulação, com venocath 24 GA, da veia jugular direita para manutenção com solução de Ringer com lactato, $5 \text{ mL.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (Cheng et al., 2003), para reposição de perda de fluídos, nos quatro grupos; manutenção com solução de dexmedetomidina no grupo Dex, em bomba de infusão contínua (Bomba Anne – Abbott, EEUU), e manutenção com solução de NaCl 0,9%, nos grupos Controle, *Sham* e Sevo, em quantidade igual à que foi administrada a solução de dexmedetomidina no grupo Dex;
- 8) dissecação e canulação, com venocath 24 GA, da artéria carótida esquerda para retirada de sangue, em seguida, para dosagem da creatinina plasmática, e para seguimento da frequência cardíaca e pressão arterial média, através do aparelho Datex , Engstron, Finlândia, para se mantê-las estáveis, adequando-se o plano anestésico dos animais;
- 9) realização de laparotomia mediana;
- 10) exposição do rim direito e subsequente nefrectomia, com armazenamento do mesmo para posterior exame histológico; em seguida, exposição do rim esquerdo e artéria renal correspondente, para posterior colocação de “clamp” vascular atraumático (após período mínimo de 20 minutos de administração do fármaco correspondente a cada grupo) por período de 45 minutos; a isquemia foi avaliada pela coloração do rim;
- 11) após os 45 minutos de isquemia, a artéria renal esquerda foi liberada do clampeamento, restaurando-se o fluxo sangüíneo arterial; a laparotomia foi fechada em único plano, sendo a pele pincelada com solução anti-séptica; o mesmo procedimento foi realizado no pescoço dos animais

após a ligadura da veia jugular e da artéria carótida; foi administrada ropivacaína 0,5%, 1 mL, no subcutâneo de ambas as cicatrizes cirúrgicas;

- 12) os animais foram recuperados da anestesia, tendo-se o cuidado de mantê-los aquecidos e com oxigênio suplementar durante toda a recuperação, e foram mantidos em gaiolas aquecidas com alimento e água por 48 horas;
- 13) após 48 horas de reperfusão, sob anestesia com pentobarbital sódico intraperitoneal, 50 mg.kg⁻¹, foram retiradas amostras sangüíneas, por punção intracardíaca, para dosagem de creatinina plasmática;
- 14) em seguida, o rim esquerdo foi retirado para exame histopatológico, após nova laparotomia mediana;
- 15) em seqüência, o sacrifício do animal foi realizado com excesso de dose de pentobarbital sódico intracardíaco.



Protocolo experimental.

Atributos Estudados

Os atributos estudados em cada um dos animais dos quatro grupos de estudo foram:

- creatinina plasmática
- exame histológico dos rins

Creatinina plasmática - Momentos Estudados

A creatinina plasmática foi obtida no início do experimento (M1) e 48 horas após o episódio de isquemia (M2).

Análise Histológica

Depois de retirados, para serem submetidos à análise histológica, os rins direitos e esquerdos foram seccionados longitudinalmente e armazenados em solução alcoólica a 70 por cento, após terem permanecido por 36 horas submersos em solução de DuBoscq Brasil (formol, 6 mL, ácido acético, 15 mL, álcool absoluto, 12 mL e ácido pícrico, 8 mL).

O corante utilizado para a análise histológica foi a hematoxilina-eosina (HE) e os cortes foram verificados sob diversos aumentos na microscopia óptica. O patologista responsável pela análise histológica não tinha como identificar a lâmina avaliada.

As lesões histológicas pesquisadas em cada lâmina foram: dilatação vascular, congestão vascular, dilatação tubular, degeneração tubular e necrose. A intensidade da lesão encontrada foi classificada de acordo com escores: 0 = ausência de lesão; 1+ = lesão leve; 2+ = lesão moderada; 3+ = lesão grave (intensa).

Análise Estatística

Para comparação dos pesos dos animais dos quatro grupos foi utilizada a análise da variância, seguida do método de Tukey. Para os valores de creatinina plasmática, foi utilizada a análise de perfil, seguida do método de Tukey. Para as variáveis que utilizaram escores, foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis para comparação dos grupos e de Wilcoxon para comparação dos lados dos rins. O valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo, sendo p a probabilidade de erroneamente se concluir pela significância (Curi, 1998).

Resultados

Os pesos dos ratos dos grupos estudados constam da Tabela 1. Os animais do grupo Controle apresentaram peso mais elevado e a diferença entre os outros grupos, embora estatisticamente significativa, mostrou-se pequena.

Imediatamente após o clampeamento da artéria renal esquerda, foi observada alteração da coloração dos mesmos, que apresentaram aspecto cianótico em mosaico. Após o desclampeamento, houve completa recuperação da coloração renal em todos os animais.

A creatinina plasmática (Tabela 2) obtida logo após a canulação arterial e previamente ao clampeamento (M1) apresentou valores homogêneos entre os grupos pesquisados. Em M2, com 48 horas de reperfusão renal, seus valores aumentaram em todos os grupos, mas nos grupos *Sham* e Sevo esse aumento não foi estatisticamente significativo. Em M2, também, foi significativa a diferença entre os grupos, sendo que Controle > Dex > Sevo > *Sham* (Figura 1).

A Tabela 3 traz o resultado da análise da histologia renal direita e esquerda dos animais dos quatro grupos estudados - as lesões encontradas e os escores para as mesmas em cada rim.

A dilatação vascular (DV) (Tabelas 3 e 3a) esteve presente tanto no rim direito quanto no esquerdo, em todos os grupos estudados. Não houve diferença significativa entre os escores de DV dos rins direitos de todos os grupos. Valores significativamente maiores de escores de DV foram observados nos rins esquerdos do grupo Controle, em relação aos direitos. Já os rins esquerdos do grupo *Sham* apresentaram, em relação aos dos outros grupos, escores significativamente menores de DV. A Figura 3 ilustra a presença de DV observada em um rim direito de animal do grupo Sevo.

Não houve diferença significativa entre os escores de congestão vascular (CV) dos rins direitos de todos os grupos. Comparados aos direitos, os rins esquerdos dos grupos Controle e Dex apresentaram escores significativamente maiores de CV (Tabelas 3 e 3b). Os escores de CV dos rins esquerdos dos grupos Controle e Dex foram iguais entre si, porém significativamente mais elevados que os escores do grupo Sevo. Estes, por sua vez, também foram significativamente mais elevados que os do grupo *Sham*. A Figura 2 ilustra a presença de CV observada em um rim esquerdo de animal do grupo Dex.

Os rins direitos dos quatro grupos estudados não apresentaram diferença significativa quanto à dilatação tubular (DT). Apenas os rins esquerdos dos grupos Controle, Sevo e Dex apresentaram escores significativamente maiores de DT, quando comparados aos direitos (Tabelas 3 e 3c). Da mesma forma, estes rins esquerdos não apresentaram diferenças significativas de escores entre si (Tabela 3c), mas estes escores foram significativamente maiores que os do grupo *Sham* (Figura 3). Assim, Controle = Dex = Sevo > *Sham*.

Os quatro grupos não apresentaram diferenças significativas entre eles quanto a escores de degeneração tubular (DG) nos rins direitos e esquerdos (Tabelas 3 e 3d). Com relação à comparação entre rins dentro de cada grupo, apenas no grupo Controle observa-se que os rins esquerdos apresentaram menos DG que os direitos. A Figura 4 ilustra a presença da degeneração tubular observada em um rim do grupo Sevo.

Pelas Tabelas 3 e 3e observa-se que os rins esquerdos dos grupos Controle, Sevo e Dex apresentaram escores de necrose significativamente maiores que os do grupo *Sham* e que os rins direitos desses mesmos grupos. A Figura 5 ilustra a presença de necrose nos grupos Controle e Dex, respectivamente.

Tabela 1 – Peso (g) dos ratos. Média e desvio padrão dos quatro grupos

Grupo	Média ± desvio padrão
Controle	436 ± 35 A
<i>Sham</i>	383 ± 41 AB
Sevo	395 ± 59 AB
Dex	375 ± 43 B

Letras maiúsculas comparam grupos.

Tabela 2 – Média e desvio padrão referentes à creatinina plasmática (mg%) segundo momento (M1 e M2) e grupo

Grupo	M1	M2
Controle	0,4 ± 0,1 b A	5,1 ± 3,1 a A
Sham	0,3 ± 0,1 a A	0,7 ± 0,1 a C
Sevo	0,3 ± 0,1 a A	1,5 ± 1,5 a BC
Dex	0,3 ± 0,1 b A	3,2 ± 2,8 a AB

Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.
Letras maiúsculas comparam grupos em cada momento.

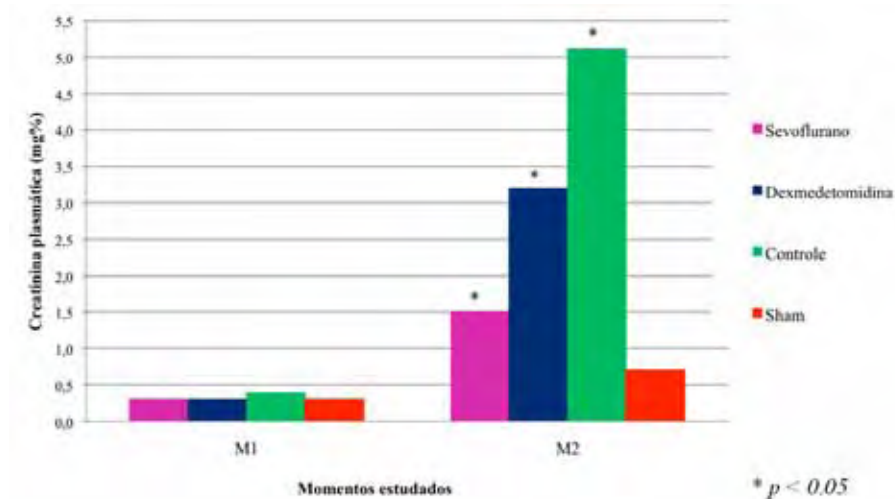


Figura 1 – Creatinina plasmática nos dois momentos nos quatro grupos de estudo.

Tabela 3 – Histologia renal dos animais dos grupos Controle, *Sham*, Sevo e Dex

GRUPO		CONTROLE					SHAM					SEVO					DEX				
RATO/RIM		DV	CV	DT	DG	N	DV	CV	DT	DG	N	DV	CV	DT	DG	N	DV	CV	DT	DG	N
1	D	1+	1+	1+	2+	0	0	0	0	1+	0	0	0	1+	0	0	1+	0	1+	0	0
	E	1+	2+	3+	0	3+	1+	0	1+	1+	1+	1+	2+	3+	2+	3+	1+	1+	3+	0	3+
2	D	1+	1+	1+	2+	0	1+	1+	1+	1+	0	1+	0	1+	1+	0	1+	1+	1+	0	0
	E	3+	2+	3+	0	3+	2+	0	2+	2+	0	1+	1+	3+	0	3+	1+	3+	3+	2+	3+
3	D	0	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	1+	0	2+	1+	2+	1+	0
	E	2+	2+	3+	0	3+	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	2+	0	3+	2+	1+	2+	1+	1+
4	D	2+	2+	2+	1+	2+	1+	1+	1+	2+	0	1+	2+	2+	1+	0	2+	1+	2+	1+	0
	E	2+	2+	3+	0	3+	0	0	1+	1+	0	2+	2+	3+	2+	3+	2+	2+	3+	2+	3+
5	D	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	2+	2+	0	1+	1+	1+	1+	0
	E	1+	1+	2+	1+	2+	1+	1+	1+	1+	2+	1+	0	2+	1+	1+	2+	2+	2+	0	3+
6	D	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	0	0	1+	1+	1+	1+	0	1+	0	2+	1+	0
	E	3+	3+	3+	0	3+	1+	1+	1+	2+	0	2+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	3+	2+	3+
7	D	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	2+	0	1+	1+	2+	1+	0	1+	1+	1+	1+	0
	E	2+	2+	2+	1+	2+	1+	1+	1+	1+	0	1+	0	1+	1+	0	3+	3+	3+	0	3+
8	D	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	1+	0	2+	1+	2+	2+	0
	E	3+	3+	3+	0	3+	1+	1+	3+	1+	0	1+	1+	2+	2+	2+	2+	1+	2+	2+	3+
9	D	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	2+	0	0	0	0	1+	0	1+	1+	2+	1+	0+
	E	3+	3+	3+	0	3+	1+	1+	1+	1+	2+	3+	3+	3+	0	3+	1+	1+	3+	1+	2+
10	D	1+	1+	1+	1+	0	0	1+	1+	1+	0	2+	0	1+	1+	0	1+	0	1+	1+	0
	E	1+	1+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	1+	1+	0	1+	1+	2+	1+	2+

D = direito; E = esquerdo. DV = dilatação vascular; CV = congestão vascular; DT = dilatação tubular; DG = degeneração tubular; N = necrose. Escores: 0 = ausência de lesão; 1+ = lesão leve; 2+ = lesão moderada; 3+ = lesão grave (intensa).

Tabela 3a – Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de dilatação vascular segundo grupo e rim

Grupo	Rim	
	Direito	Esquerdo
Controle	1,0 [1,0;1,0]b A	2,0[1,0;3,0]a A
<i>Sham</i>	1,0[1,0;1,0]a A	1,0[1,0;1,0]a B
Sevo	1,0[1,0;1,0]a A	1,0[1,0;2,0]a A
Dex	1,0[1,0;2,0]a A	2,0[1,0;2,0]a A

Letras minúsculas comparam rins (direito e esquerdo) de cada grupo.

Letras maiúsculas comparam grupos de cada rim (direito ou esquerdo).

Tabela 3b – Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de congestão vascular segundo grupo e rim

Grupo	Rim	
	Direito	Esquerdo
Controle	1,0[1,0;1,0]b A	2,0[2,0;3,0]a A
<i>Sham</i>	1,0[1,0;1,0]a A	1,0[0,0;1,0]a C
Sevo	1,0[0,0;1,0]a A	1,0[1,0;2,0]a B
Dex	1,0[0,0;1,0]b A	1,5[1,0;2,0]a A

Letras minúsculas comparam rins (direito e esquerdo) de cada grupo.

Letras maiúsculas comparam grupos de cada rim (direito ou esquerdo).

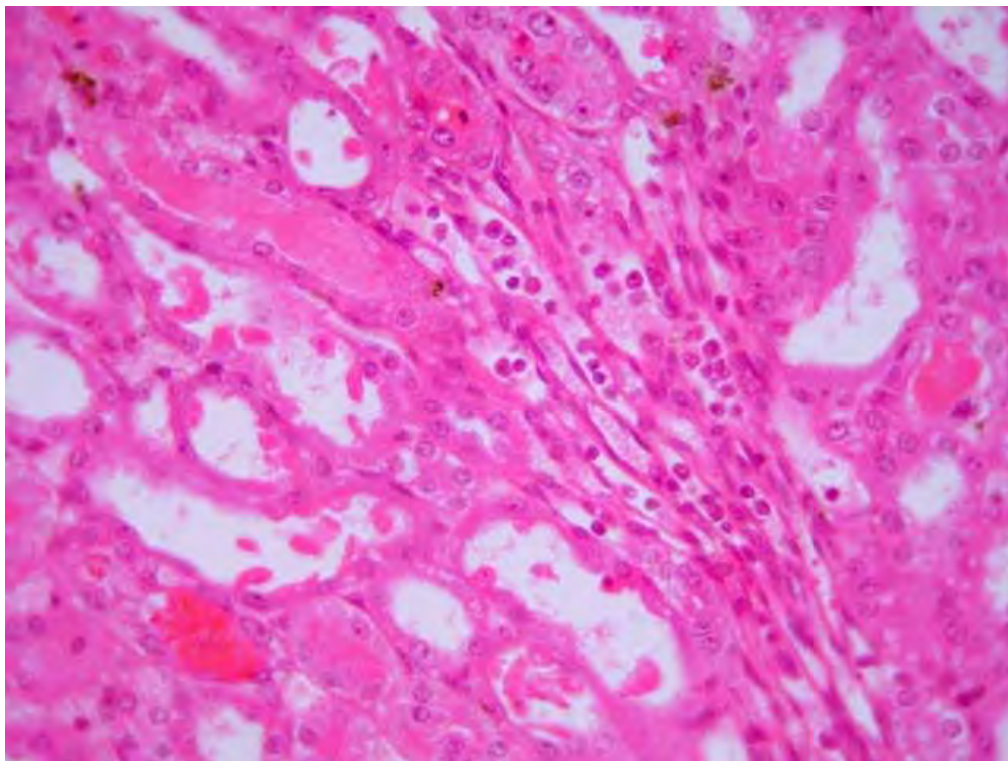


Figura 2 - Congestão de vasos retos de um rim do grupo Dex. HE40x.

Tabela 3c – Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de dilatação tubular segundo grupo e rim

Grupo	Rim	
	Direito	Esquerdo
Controle	1,0[1,0;1,0]b A	3,0[2,0;3,0]a A
<i>Sham</i>	1,0[1,0;1,0]a A	1,0[0,0;1,0]a B
Sevo	1,0[0,0;2,0]b A	2,0[2,0;3,0]a A
Dex	1,5[1,0;2,0]b A	3,0[2,0;3,0]a A

Letras minúsculas comparam rins (direito e esquerdo) de cada grupo.

Letras maiúsculas comparam grupos de cada rim (direito ou esquerdo).

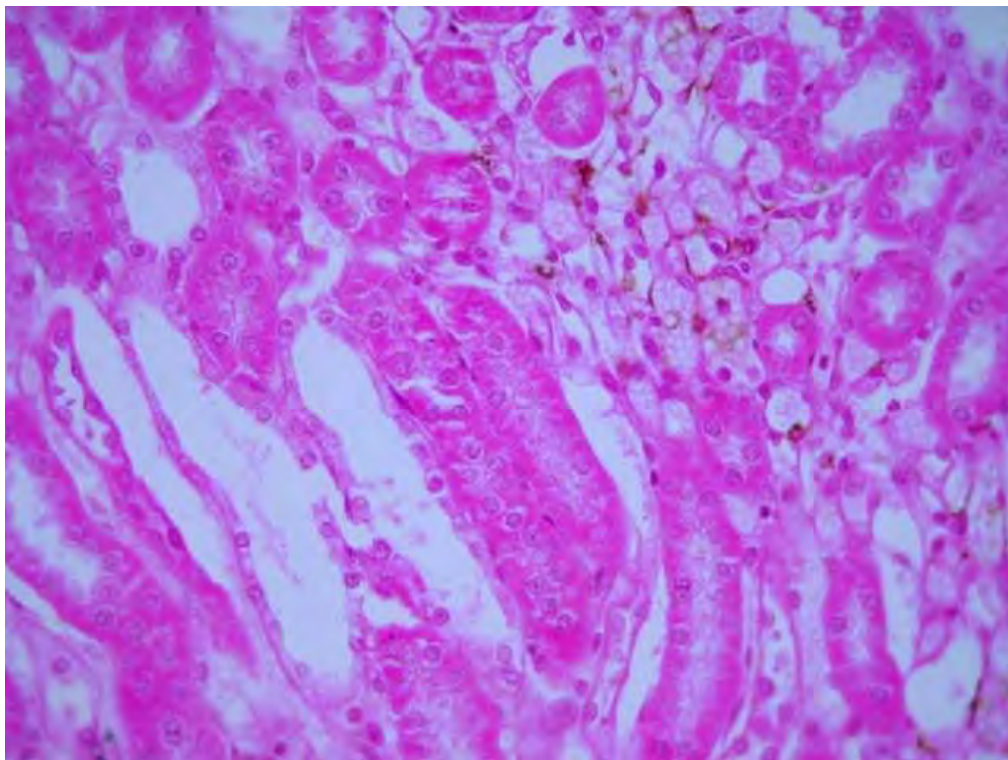


Figura 3 - Dilatação vascular e tubular de um rim do grupo Sevo. HE-40x.

Tabela 3d – Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de degeneração tubular segundo grupo e rim

Grupo	Rim	
	Direito	Esquerdo
Controle	1,0[1,0;1,0]a A	0,0[0,0;1,0]b A
<i>Sham</i>	1,0[1,0;2,0]a A	1,0[1,0;1,0]a A
Sevo	1,0[0,0;2,0]a A	1,0[0,0;2,0]a A
Dex	1,0[1,0;1,0]a A	1,0[0,0;2,0]a A

Letras minúsculas comparam rins (direito e esquerdo) de cada grupo.

Letras maiúsculas comparam grupos de cada rim (direito ou esquerdo).

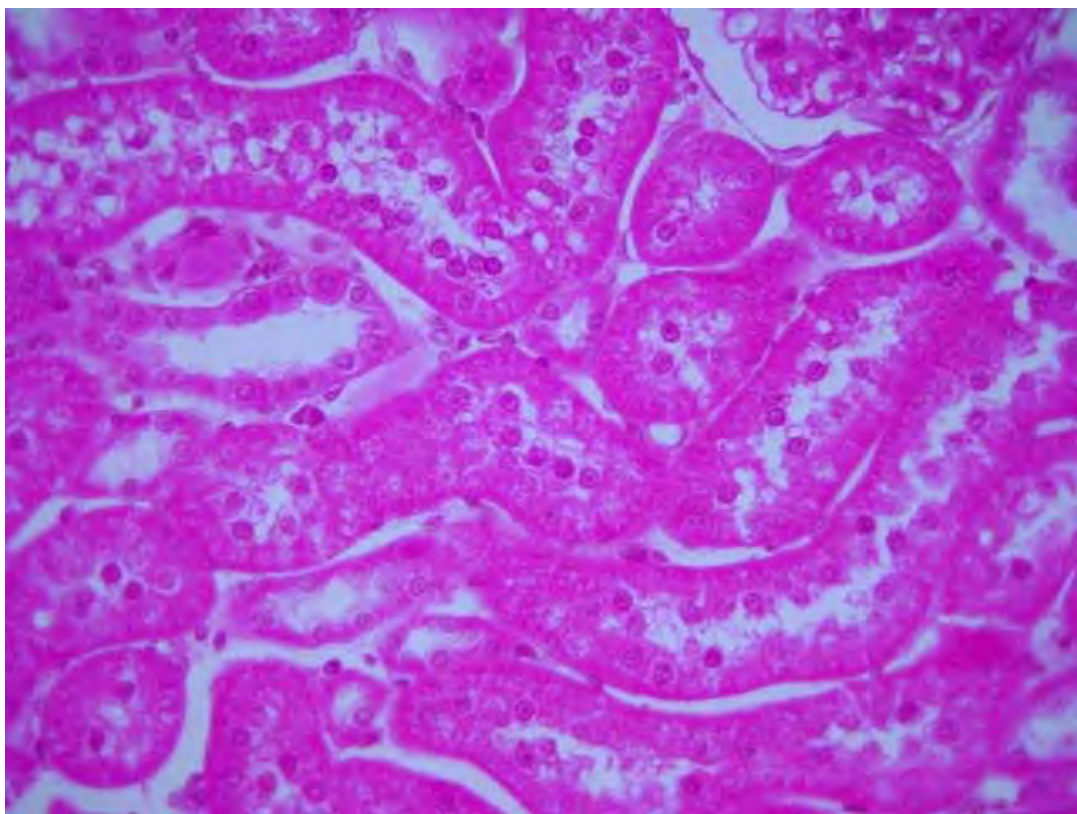


Figura 4 – Degeneração tubular leve de um rim do grupo Sevo. HE-40x.

Tabela 3e – Mediana, 1º e 3º quartis, entre colchetes referentes aos escores de necrose segundo grupo e rim.

Grupo	Rim	
	Direito	Esquerdo
Controle	0,0[0,0;0,0]b A	3,0[2,0;3,0]a A
<i>Sham</i>	0,0[0,0;0,0]a A	0,0[0,0;1,0]a B
Sevo	0,0[0,0;0,0]b A	2,5[1,0;3,0]a A
Dex	0,0[0,0;0,0]b A	3,0[2,0;3,0]a A

Letras minúsculas comparam rins (direito e esquerdo) de cada grupo.

Letras maiúsculas comparam grupos de cada rim (direito ou esquerdo).

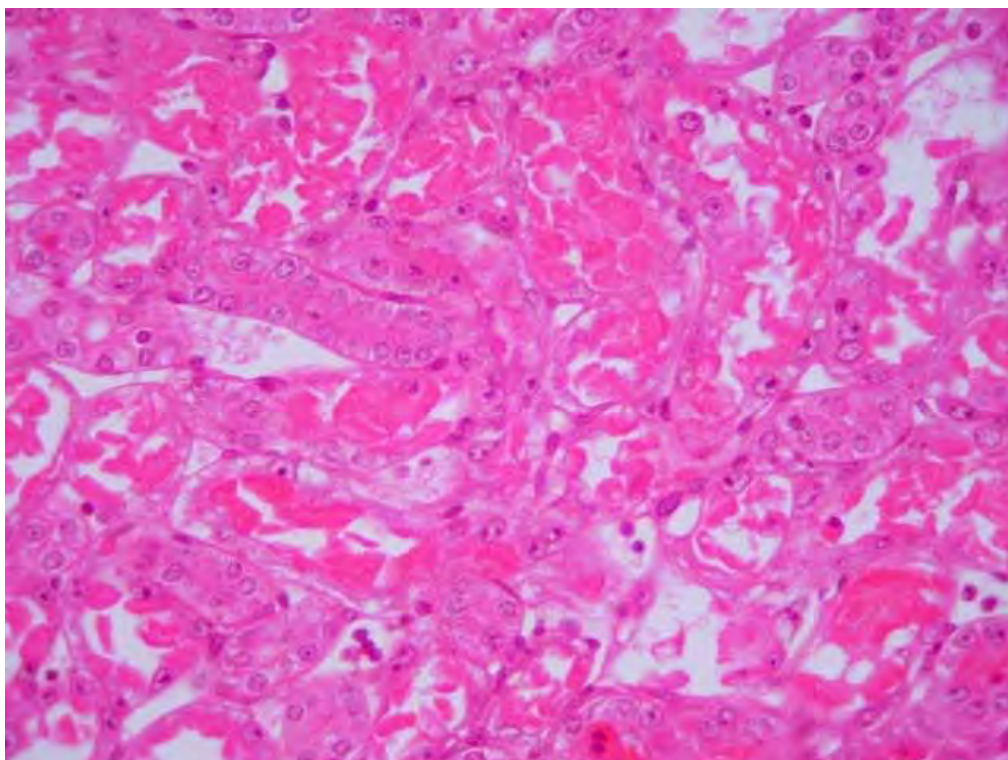


Figura 5 – Necrose intensa de um rim do grupo Dex. HE-40x.

Discussão

Os efeitos antiisquêmicos dos anestésicos voláteis foram inicialmente propostos por Bland & Lowenstein, em 1976, que demonstraram que o halotano reduziu a elevação do segmento ST em cães submetidos à breve oclusão da artéria coronária.

Desde o surgimento de pesquisas sobre o pré-condicionamento isquêmico no coração (Murry et al., 1986), muito tem sido investigado sobre este fenômeno em outros órgãos. Hoje se sabe que vários fármacos simulam esse pré-condicionamento, como os agonistas do receptor da adenosina, agonistas opióides, agonistas dos receptores α_2 -adrenérgicos, anestésicos inalatórios e etc, enquanto outros até inibem o pré-condicionamento, como os antagonistas do receptor da adenosina, antagonistas dos receptores α_2 -adrenérgicos, anestésicos venosos (*R(+)*-cetamina, tiopental sódico e pentobarbital sódico) (Riksen et al., 2004b).

O presente estudo foi realizado com o objetivo de se compararem os possíveis efeitos do pré-condicionamento farmacológico, sobre o rim isquêmico de rato, realizado com dois agentes utilizados em anestesia, sevoflurano e dexmedetomidina.

Enquanto diferentes agentes anestésicos utilizados como pré-condicionantes são reconhecidos por protegerem o coração e reduzirem o tamanho dos infartos miocárdicos (Kevin et al., 2003; Riess et al., 2004), até hoje pouco foi relatado sobre o pré-condicionamento anestésico do rim.

Estudo recente (Obal et al., 2006) comparou os efeitos do pré-condicionamento farmacológico com sevoflurano (administrado em período de apenas 20 minutos antes da isquemia) com os do pré-condicionamento isquêmico sobre a função renal e sua morfologia após isquemia e reperfusão. Nesse estudo, o rim direito foi retirado 14 dias antes do experimento e o

período de isquemia utilizado nos grupos foi de 45 minutos, exceto no grupo *Sham*. Todos os ratos desse estudo foram anestesiados com S(+)-cetamina por via venosa, inclusive os do grupo que recebeu sevoflurano, cuja anestesia durante o período de isquemia foi mantida apenas com S(+)-cetamina. Vale dizer que este comportamento experimental foi semelhante ao adotado no grupo Controle dos animais deste estudo que realizamos. Obal et al., entretanto, concluíram que nem o sevoflurano e nem o PCI preservaram a função renal ou atenuaram o dano celular nos ratos *in vivo*.

O período de 45 minutos de oclusão (isquêmico) é reconhecido por produzir importante, mas não-fatal, lesão de órgãos e tem sido utilizado em alguns estudos sobre isquemia e reperfusão no rim de rato (Shanley et al. 1986; Yamashita et al., 2003). De acordo com o que foi descrito acima, o período de 45 minutos de oclusão unilateral da artéria renal foi utilizado para determinar se o sevoflurano e a dexmedetomidina protegem o rim da lesão de isquemia e reperfusão, ou seja, proporcionam pré-condicionamento farmacológico.

O uso da creatinina sangüínea para avaliar o ritmo de filtração glomerular tem suas limitações (Bagshaw et al., 2008), porque sua produção e liberação no sangue podem ser muito variáveis. Assim, ela seria útil nos casos em que o organismo alcançou estado de equilíbrio, o que pode levar dias para ocorrer (Nguyen & Davarajan, 2007). Segundo Moran & Myers, 1985, decréscimo repentino no ritmo de filtração glomerular determinaria elevação lenta da creatinina sangüínea em cerca de dois a três dias. Nos animais do presente experimento, após dois dias do desenvolvimento do modelo de cada grupo, a creatinina sangüínea elevou-se, mesmo que de forma não significativa, como no *Shaw* e Sevo. O experimento é agressivo, mesmo sem a isquemia renal, porém o foi mais quando os animais receberam apenas a S(+)-cetamina.

Já foi demonstrado (Ko et al., 1997) que a cetamina bloqueia a abertura dos canais K_{ATP} em miócitos cardíacos. Lee et al., 2004, verificaram, ainda, que nem a cetamina e nem o pentobarbital sódico protegeram o rim dos

efeitos da isquemia. Esses autores observaram que em ratos que receberam anestésicos inalatórios (halotano, isoflurano, sevoflurano e desflurano) foi observada proteção renal diante da lesão de isquemia e reperfusão, quando esses animais foram comparados aos que receberam pentobarbital ou cetamina. Houve atenuação da resposta inflamatória (redução da necrose tubular).

Um estudo (Molajavi et al., 2000) investigou os efeitos da cetamina e seus enantiômeros *S*(+) e *R*(-)-cetamina sobre o pré-condicionamento miocárdico sujeito a isquemia e reperfusão globais. A cetamina racêmica aboliu a cardioproteção induzida pelo pré-condicionamento. Este efeito foi estereosseletivo e causado pelo enantiômero *R*(-)-cetamina administrado previamente ao período de pré-condicionamento.

Contudo, Müllenheim et al., 2001, investigaram os efeitos da cetamina racêmica e *S*(+)-cetamina sobre o pré-condicionamento isquêmico em corações de coelhos *in vivo*. Eles relataram que a exposição à *S*(+)-cetamina não interferiu no pré-condicionamento isquêmico. Já uma única dose de cetamina racêmica não apresentou efeito sobre o tamanho do infarto em animais sem pré-condicionamento, mas aboliu os efeitos cardioprotetores do pré-condicionamento isquêmico.

Optou-se pela *S*(+)-cetamina para a indução anestésica nesta pesquisa por se acreditar que a mesma não interferiria nos resultados de pré-condicionamento farmacológico, se esses acontecessem com o emprego de sevoflurano e dexmedetomidina, como comprovado por Zaugg et al. (2002a). Visto que todos os animais deste estudo foram preparados com a administração intraperitoneal de *S*(+)-cetamina, ela não poderia ser responsabilizada pelas diferenças que pudessem surgir entre os grupos do experimento.

Entretanto, Rusafa et al., 2006, investigaram o efeito da *S*(+)-cetamina sobre a histologia renal de ratos após hemorragia intra-operatória provocada. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico,

submetidos à hemorragia aguda e divididos em dois grupos, um que recebeu apenas o barbitúrico e outro no qual também se administrou *S(+)*-cetamina. Hemorragia e hipotensão determinaram alterações na histologia renal. Os autores acreditam que aumento da concentração de catecolaminas provavelmente determinou escores mais altos de alterações histológicas renais com o uso de *S(+)*-cetamina.

Pela Tabela 2, o grupo *Sham*, que somente foi submetido à nefrectomia direita, sem isquemia renal esquerda, sob anestesia com *S(+)*-cetamina de forma intermitente, apresentou discreta e não significativa elevação na creatinina plasmática (em M2). Ainda, quando comparado aos outros grupos, apresentou poucas alterações na histologia renal (Tabela 3). Neste grupo não houve alterações histológicas comparáveis às observadas com o uso da *S(+)*-cetamina por Rusafa et al. (2006).

O grupo Controle desta presente pesquisa, submetido à anestesia com doses intermitentes de *S(+)*-cetamina da mesma forma que o *Sham*, mas com isquemia renal de 45 minutos, apresentou os valores de creatinina mais alterados de todos os grupos no M2, ou seja, com 48 horas de reperfusão (Tabela 2). Além disso, observaram-se maiores alterações histológicas, quando este grupo é comparado ao *Sham* (Tabela 3). Conclui-se, portanto, que neste modelo de isquemia e reperfusão a *S(+)*-cetamina não apresentou propriedades protetoras da função renal, sendo a que mais alterou esta função no período pós-operatório. Entretanto, o sevoflurano mostrou-se como o agente que menos interferiu com a creatinina, tanto que, do ponto de vista estatístico, não foi significativa a diferença entre o seu resultado de creatinina em M2 e o do grupo *Sham*.

Deduz-se que a *S(+)*-cetamina promoveu dilatação vascular porque todos os grupos a apresentaram no rim direito, e, dentre todos os grupos, apenas o Controle exibiu mais dilatação vascular nos rins esquerdos que nos direitos. Entretanto, isquemia e reperfusão também a promoveram porque os rins esquerdos do grupo *Sham*, que não sofreram isquemia e foram anestesiados com *S(+)*-cetamina, apresentaram-na em menor intensidade.

Assim, a combinação de S(+)-cetamina com isquemia e reperfusão teria sido a pior para os rins dos animais quanto a este quesito de alteração histológica.

Com relação à congestão vascular, à S(+)-cetamina pode ser imputada a causa, também, uma vez que os rins direitos de todos os grupos a apresentaram. A avaliação da histologia renal mostrou que a S(+)-cetamina e a dexmedetomidina, juntamente com a isquemia e reperfusão, provocaram mais congestão vascular que a combinação de sevoflurano com isquemia e reperfusão. Ou seja, parece que o sevoflurano atenuou a congestão após o período de reperfusão. O grupo *Sham* foi aquele que apresentou os menores escores de congestão vascular.

O padrão histológico de necrose tubular encontrado na análise dos animais estudados assemelha-se, em muitos aspectos, aos descritos em relatos prévios sobre lesão de isquemia e reperfusão (Glaumann et al., 1975; Gobe et al., 1999). O grau de alteração histológica encontrado variou de dilatação vascular à necrose e foi classificado em escores de lesão de acordo com o seu comprometimento. A semelhança mais comumente encontrada entre os grupos submetidos à isquemia foi o achado de que o túbulo proximal mostrou elevado grau de susceptibilidade à lesão (dilatação), como já foi comprovado por outro estudo (Obal et al., 2006).

Uma das maiores diferenças encontradas entre o protocolo deste presente estudo e os de outros é a nefrectomia unilateral (direita) realizada logo após a laparotomia. A nefrectomia foi realizada com o objetivo de se prevenir a compensação do rim submetido à isquemia e reperfusão pelo rim contralateral. O rim único pode ser mais susceptível à lesão do que quando o outro órgão permanece intacto (Fujii et al., 2005). Islam et al., 1997, não encontraram quaisquer diferenças entre rins pré-condicionados por isquemia e sem pré-condicionamento em animais que permaneceram com os dois rins, evidenciando a capacidade do rim contralateral de compensar a função daquele submetido à isquemia.

Outro estudo (Toosy et al., 1999) que utilizou método altamente sensível para detectar dano celular, inclusive no grupo *Sham*, evidenciou que o pré-condicionamento isquêmico protegeu o rim. Porém, nesse mesmo estudo o período de isquemia foi curto, sem nefrectomia contralateral e em ratos fêmeas. É sabido que ratos machos são mais susceptíveis à lesão por isquemia e reperfusão (Park et al., 2004), razão pela qual esta pesquisa foi realizada somente com tais animais. Desses achados poderia se especular que, com a lesão isquêmica grave imposta neste estudo, o pré-condicionamento não teria um efeito protetor.

Em 1993, Kharasch & Thummel revisaram a nefrotoxicidade do sevoflurano relatada em alguns estudos. Encontraram que a exposição prolongada sob elevadas concentrações de sevoflurano causou lesão considerável às células tubulares proximais de rato. O sevoflurano é degradado pelos absorventes de CO₂ dos aparelhos de anestesia em diferentes compostos e o sistema de enzimas hepáticas do rato produz metabólitos nefrotóxicos (Kharasch et al., 1997). Entretanto, estudos que investigaram o efeito da anestesia com sevoflurano em indivíduos com função renal intacta ou com disfunção não detectaram deterioração pós-operatória na função deste órgão (Mazze et al., 2000). Portanto, parece improvável que a relatada sensibilidade específica do rato ao sevoflurano seja a responsável pela lesão encontrada, por exemplo, em alguns dos animais pré-condicionados com sevoflurano nesta atual pesquisa.

Neste estudo não foi utilizado absorvedor do CO₂ e a dose e duração do pré-condicionamento não são comparáveis a elevadas concentrações ou períodos longos de administração utilizados em pesquisas prévias (Kharasch & Thummel, 1993).

Já foi documentado, em pesquisas anteriores sobre lesão miocárdica por reperfusão, que a depressão hemodinâmica global determinada pelo sevoflurano e observada em ratos, mesmo após isquemia miocárdica, é rápida e não deixa vestígios sobre a função do órgão (Obal et al., 2003). Portanto, pode ser que possíveis alterações do fluxo sanguíneo renal ou da

pressão de perfusão renal, mediante o uso do sevoflurano ou mesmo da dexmedetomidina, não influenciassem o efeito do pré-condicionamento.

Em pacientes submetidos a cirurgias cardíacas, Julier et al., 2003, relataram elevação no fluxo sanguíneo renal e na taxa de filtração glomerular (determinada pelos níveis sanguíneos de cistatina C) após pré-condicionamento com sevoflurano prévio ao *bypass* cardiopulmonar. Infelizmente, esses autores não foram capazes de determinar se esta melhora foi resultado de efeito específico sobre o rim ou se foi causada pela melhora do débito cardíaco, nos pacientes que receberam sevoflurano prévio à circulação extracorpórea. Esses efeitos positivos podem sugerir que o pré-condicionamento anestésico pode ter um efeito positivo também sobre o rim humano.

O agonista α_2 -adrenérgico utilizado neste estudo, a dexmedetomidina, é causa de alterações urinárias conseqüentes às alterações hemodinâmicas que provoca. Ele determina redução na liberação da vasopressina (Cabral et al., 1998) ou inibe sua ação sobre o túbulo distal (Gellai, 1990), inibe a liberação de renina e aumenta a liberação do peptídeo natriurético atrial (Maze et al., 1991). Cabral et al., 1998, demonstraram que a infusão venosa de xilazina, agonista α_2 -adrenérgico como a dexmedetomidina, aumentou o fluxo urinário basal e a excreção de sódio em ratos anestesiados com cetamina, resultado que estaria em oposição às baixas excreções urinárias de água e sódio observadas em ratos que anestesiaram apenas com cetamina e pentobarbital sódico. Ou seja, então os fármacos agonistas do receptor α_2 -adrenérgico teriam ação oposta à da cetamina sobre a função renal?

Cussac et al., 2002, cultivaram células de túbulo proximal de ratos e evidenciaram, entre outros achados, que a exposição das células aos α_2 -agonistas aumentou a atividade das cinases de proteínas ativadas por mitógenos (CPAMs), sabidamente responsáveis pelo pré-condicionamento. Em outro estudo, Dahmani et al. (2005) observaram que a dexmedetomidina proporcionou pré-condicionamento diante da lesão isquêmica, induzindo

sobrevivência celular em cortes de hipocampo de ratos submetidos à privação de oxigênio e glicose. Estes autores acreditam que outros estudos sejam necessários para esclarecer o preciso mecanismo da ativação das CPAMs que também encontraram, contudo a pesquisa sugere que os receptores α_2 -adrenérgicos apresentam papel positivo principalmente durante a regeneração tubular.

Marangoni et al. (2007) avaliaram os efeitos da dexmedetomidina sobre a função e histologia renais, em ratos, após hemorragia aguda. À análise histológica, verificaram o predomínio de dilatação tubular sobre outras alterações encontradas. Neste atual estudo, também foram encontrados escores significativamente mais elevados de dilatação tubular nos grupos Dex, Controle e Sevo, quando comparados ao *Sham*.

A dilatação tubular ocorreu nos rins direitos de forma igual e mais discreta que nos rins esquerdos em todos os grupos estudados, exceto o *Sham*. Quando se observam estes rins esquerdos, este achado histológico foi igualmente significativo nos animais de todos os grupos nos quais se realizaram a isquemia e reperfusão. Logo, à S(+)-cetamina, à dexmedetomidina, ao sevoflurano e à isquemia e reperfusão pode ser imputado este resultado histológico.

De acordo com Nord et al., 1987, a estimulação dos receptores α_2 -adrenérgicos, localizados nos túbulos proximais de ratos, induz elevação na reabsorção de sódio (Na^+) e bicarbonato (HCO_3^-) pelo aumento da atividade na troca de Na^+/H^+ . Este aumento é devido, principalmente, à ativação da isoforma NHE3 que é expressa na membrana da borda em escova das células proximais tubulares. Além disso, os α_2 -agonistas aumentam a atividade da Na^+/K^+ -ATPase localizada na membrana basal. Assim, ambos os mecanismos podem coordenadamente contribuir para acelerar a reabsorção do Na^+ . Estudos sobre a ligação e imunolocalização (Huang et al., 1996) deixaram claro que os efeitos dos α_2 -agonistas sobre o túbulo proximal são devidos à estimulação dos α_{2B} -adrenérgicos, fração que está particularmente elevada neste segmento do néfron. Contudo, os mecanismos moleculares responsáveis

pela ativação do NHE3 e Na^+/K^+ -ATPase não estão completamente esclarecidos. A dexmedetomidina contribuiria, assim, para a manutenção e preservação da função renal.

Em quase todos os tipos de células os receptores α_2 -adrenérgicos estão acoplados às proteínas G_i/G_o , e sua estimulação causa inibição da produção de AMPc. De acordo com isso, a epinefrina inibe a liberação de hormônio paratireóideo induzido pelo o aumento de AMPc no túbulo proximal bem como nas células renais de gambás (subtipo α_{2C}). A pesquisa por caminhos alternativos da sinalização da transdução demonstrou que os receptores adrenérgicos α_{2B} estimulam a atividade da proteína cinase C (PKC) e a produção do trifosfato de inositol no túbulo distal (Cussac et al., 2002). Esse aumento na atividade da PKC decorrente da ação no receptor α_2 -adrenérgico poderia, em outras palavras, ser responsável pela suposta proteção celular, semelhante à do pré-condicionamento isquêmico.

Inicialmente identificada como ativada pelos receptores da tirosina cinase, as cinases reguladas por sinal extracelular (ERK) também são estimuladas por uma grande variedade de receptores ligados à proteínas G. A ativação das ERKs foi conferida após a estimulação dos receptores adrenérgicos α_{2C} em células renais de gambás (Kribben et al., 1998).

Segundo Cussac et al. (2002), os receptores adrenérgicos α_{2B} ativam a via das ERKs e estimulam a proliferação das células epiteliais derivadas dos túbulos proximais do rato e porco. A ativação das ERKs pelos α_{2B} é independente da inibição da adenilciclase ou da estimulação da PKC, mas se correlaciona com o aumento da atividade da fosfolipase A_2 . Independentemente do preciso mecanismo responsável pela fosforilação da ERK, parece que a ação das catecolaminas sobre os receptores adrenérgicos α_{2B} pode desempenhar um papel na resposta adaptativa a lesão tecidual renal aguda no rato. Neste presente estudo, não houve conclusão sobre a suposta proteção renal exercida pela dexmedetomidina diante da lesão por isquemia e reperfusão.

Os α_2 -agonistas adrenérgicos têm, ainda, demonstrado capacidade de alterar a resposta termorreguladora. A dexmedetomidina é capaz de provocar intensa hipotermia em camundongos, mediada, principalmente, pelo agonismo aos receptores α_{2A} , e ocasiona diminuição da liberação de noradrenalina, dopamina e serotonina no sistema nervoso central (Lahdesmaki et al., 2003).

Delbridge et al. (2007) demonstraram os efeitos da variação da temperatura sobre a concentração sangüínea de creatinina durante período isquêmico de 45 minutos em rim esquerdo de rato, após nefrectomia direita. Os animais foram divididos em 3 grupos: rato sobre colchonete aquecido (grupo 1), sem colchonete (grupo 2) e com sistema de manutenção da temperatura com manta térmica e termômetro retal (grupo 3). A temperatura foi verificada a cada 5 minutos. A média da temperatura ao final do procedimento no grupo 1 foi de 39,7°C e a concentração de creatinina, de 574 mg% $\pm$ 17,84, no grupo 2, de 32,6°C e 115 mg% $\pm$ 4,06, respectivamente, e no grupo 3, a temperatura foi mantida entre 36,5°C e 37°C e a creatinina foi de 329 mg% $\pm$ 19,18. A temperatura do animal durante a fase isquêmica da lesão de isquemia e reperfusão afetou significativamente a gravidade da lesão. Hipertermia resultou em grave lesão e insuficiência renal, enquanto hipotermia relativa reduziu a lesão renal. Já a normotermia determinou elevação transitória da creatinina. Neste presente estudo a temperatura dos animais foi mantida entre 36°C e 38°C e até poderia ajudar a justificar a elevação da creatinina e as alterações histológicas encontradas no grupo *Sham*.

Para a manutenção da temperatura dos ratos em normotermia, foram utilizadas bolsas térmicas. A elevação da creatinina no grupo Controle no M2 foi significativa e semelhante à encontrada por Delbridge et al. (2007), diante de isquemia e normotermia. A creatinina, então, refletiria o desarranjo da função renal promovida pela isquemia e reperfusão em animais anestesiados com vários fármacos.

A lesão renal associada à isquemia e reperfusão resulta de processo dinâmico envolvendo a vasculatura e os túbulos em uma complexa

interação. Eventos modulando a vasculatura alterarão o suprimento de oxigênio e nutrientes às células epiteliais e as células epiteliais lesadas responderão pela produção de fatores autócrinos que afetarão sua própria sobrevivência e fatores parácrinos que afetarão a vasculatura. Há ativação da cascata de sinalização, resultando em alterações hemodinâmicas, leucocitose e lesão direta das células epiteliais tubulares, seguida por um processo de reparo que pode restaurar a morfologia e função (Bonventre & Weinberg, 2003).

Considerações finais

Observando-se os resultados encontrados nesta pesquisa, verifica-se que o modelo experimental apresentado foi agressivo, mesmo quando não ocorreu a isquemia renal esquerda. Prova este fato, o aumento da creatinina plasmática em valores mais de duas vezes maiores que os valores controles, no grupo *Sham*, no qual se realizou nefrectomia sem isquemia do rim contralateral. Nos outros grupos, a elevação da creatinina com 48 horas de reperfusão renal esquerda foi muito maior que a do *Sham*, sendo que a *S(+)*-cetamina e a dexmedetomidina foram mais agressivas que o sevoflurano. Poder-se-ia falar em proteção pelo sevoflurano? Se houver relação direta entre resultado da creatinina e dano renal, a *S(+)*-cetamina seria o fármaco que mais desarranjou a função do órgão, seguida pela dexmedetomidina. Os resultados histológicos também apontam para a conclusão de que a *S(+)*-cetamina e a isquemia e reperfusão são uma associação deletéria para o rim. O sevoflurano foi o agente que determinou menos alteração da creatinina plasmática após 48 horas de reperfusão e os animais que o receberam, a exemplo dos animais do grupo *Dex*, também foram anestesiados, inicialmente, com *S(+)*-cetamina. Logo, há que se considerar que este anestésico volátil teria exercido efeito benéfico no rim dos ratos, possivelmente por pré-condicionamento. Futuros estudos deverão ser desenvolvidos para esclarecer os achados sobre este complexo tema.

Conclusão

Para o rim de rato submetido à isquemia e reperfusão, o sevoflurano foi mais benéfico que a dexmedetomidina, do ponto de vista funcional e histológico, sendo que a *S(+)*-cetamina foi o fármaco que mais se associou à disfunção e às alterações histológicas do órgão.

Referências

- Abernethy VE, Lieberthal W. Acute renal failure in the critically ill patient. *Crit Care Clin* 2002;18:203-22.
- Armstrong SC. Protein kinase activation and myocardial ischemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2004;61:427-36.
- Auchampach JA, Grover GJ, Gross GJ. Blockade of ischemic preconditioning in dogs by the novel ATP dependent potassium channel antagonist sodium 5-hydroxydecanoate. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 1054-62.
- Bagshaw SM, Gibney TN. Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med* 2008;36:S152-S158.
- Baines CP, Goto M, Downey JM. Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 207-16.
- Barbosa V, Sievers RE, Zaugg CE, Wolfe CL. Preconditioning ischemia time determines the degree of glycogen depletion and infarct size reduction in rat hearts. *Am Heart J* 1996; 131: 224-30.
- Belhomme D, Peynet J, Louzy M et al. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999; 100: 340-4.
- Bernaudin M, Tang Y, Reilly M et al. Brain genomic response following hypoxia and re-oxygenation in the neonatal rat. Identification of genes that might contribute to hypoxia tolerance. *J Biol Chem* 2002; 277: 39728-38.
- Bland JH, Lowenstein E. Halothane-induced decrease in experimental myocardial ischemia in the non-failing canine heart. *Anesthesiology* 1976; 45: 287-93.
- Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 1897-918.

- Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2199-210.
- Bouchard J-F, Lamontagne D. Mechanisms of protection afforded by preconditioning to endothelial function against ischemic injury. *Am J Physiol* 1996;271:H1801-6.
- Cabral AM, Kapusta DR, Kenigs VA, Varner KJ. Central α_2 -receptor mechanisms contribute to enhanced renal responses during ketamine-xylazine anesthesia. *Am J Physiol* 1998;275:R1867-74.
- Cheng YJ, Chien CT, Wang YP et al. Fluid administration prevents renal dysfunction during hypotension under spinal anesthesia in a rat model. *Acta Anaesthesiol Sin* 2003;41:7-12.
- Cohen MV, Yang XM, Neumann T et al. Favorable remodeling enhances recovery of regional myocardial function in the weeks after infarction in ischemically preconditioned hearts. *Circulation* 2000; 102: 579-83.
- Cohen MV, Yang XM, Liu GS et al. Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial K (ATP) channels. *Circ Res* 2001; 89: 273-8.
- Curi PR. Metodologia e Análise da Pesquisa em Ciências Biológicas. Botucatu: Gráfica e Editora Tipomic. 1998. 220p.
- Cussac D, Schaak S, Gales C et al. α_{2B} -Adrenergic receptors activate MAPK and modulate proliferation of primary cultured proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282: F943-52.
- Dahmani S, Rouelle D, Gressens P et al. Effects of dexmedetomidine on hippocampal focal adhesion kinase tyrosine phosphorylation in physiologic and ischemic conditions. *Anesthesiology* 2005; 103: 969-77.
- Delbridge MS, Shrestha BM, Raftery AT et al. The effect of body temperature in a rat model of renal ischemic-reperfusion injury. *Trans Proceed* 2007; 39: 2983-5.

- Engelhard K, Werner C, Kaspar S et al. Effect of the α_2 -agonist dexmedetomidine on cerebral neurotransmitter concentrations during cerebral ischemia in rats. *Anesthesiology* 2002; 96: 450-7.
- Fujii T, Takaoka M, Tsuruoka N et al. Dietary supplementation of L- carnosine prevents ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 361-3.
- Garlid KD, Paucek P, Yarov-Yarovoy V et al. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels. Possible mechanism of cardioprotection. *Circ Res* 1997; 81: 1072-82.
- Gellai M. Modulation of vasopressin antidiuretic action by renal alpha 2-adrenoceptors. *Am J Physiol* 1990; 259: 1-8.
- Gho BC, Shoemaker RG, Doel MA van den et al. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation* 1996; 94: 2193-200.
- Glaumann B, Glaumann H, Berezesky IK et al. Studies on the pathogenesis of ischemic cell injury. II. Morphological changes of the pars convolute (P1 and P2) of the proximal tubule of the rat kidney made ischemic *in vivo*. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1975; 19: 281-302.
- Gobe G, Willgoss D, Hogg N et al. Cell survival or death in renal tubular epithelium after ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* 1999; 56: 1299-304.
- Goto M, Liu Y, Yang XM et al. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbits hearts. *Circ Res* 1995; 77: 611-21.
- Gray MO, Karliner JS, Mochly-Rosen D. A selective epsilon-protein kinase C antagonist inhibits protection of cardiac myocytes from hypoxia-induced cell death. *J Biol Chem* 1997; 272: 30945-51.
- Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischemia, but open upon reperfusion. *Biochem J* 1995; 307(Pt 1): 93-8.
- Gross GJ, Auchampach JA. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Cir Res* 1992; 70: 223-33.

- Gross GJ, Peart JN. KATP channels and myocardial preconditioning: an update. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H921-30.
- Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 372-85.
- Heyndrickx GR. Early reperfusion phenomena. *Sem Cardiothoracic Vasc Anesth* 2006; 10: 236-41.
- Hu K, Nattel S. Mechanisms of ischemic preconditioning in rats hearts. Involvement of alpha 1 β -adrenoceptors, pertussis toxin-sensitive G proteins, and protein kinase C. *Circulation* 1995; 92: 2259-65.
- Huang L, Wei YY, Momose-Hotokezaka A et al. α_{2B} -Adrenergic receptors: immunolocalization and regulation by potassium depletion in rat kidney. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1996; 270: F1015-26.
- Islam CF, Mathie RT, Dinneen MD et al. Ischemia-reperfusion injury in the rat kidney: The effect of preconditioning. *Brit J Urol* 1997; 79: 842-7.
- Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science* 2002; 298: 1911-2.
- Juhaszova M, Zorov DB, Kim SH et al. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest* 2004; 113: 1535-49.
- Julier K, Da Silva R, Gracia C et al. Predonditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology* 2003; 98: 1315-27.
- Kharasch ED, Thummel KE. Identification of cytochrome P450 2E1 as the predominant enzyme catalyzing human liver microsomal deflurination of sevoflurane, isoflurane, and methoxyflurane. *Anesthesiology* 1993; 79: 795-807.

- Kharasch ED, Thorning D, Garton K et al. Role of renal cysteine conjugate beta-lyase in the mechanism of compound A nephrotoxicity in rats. *Anesthesiology* 1997; 86: 160-71.
- Kevin LG, Katz P, Camara AK et al. Anesthetic preconditioning: effects on latency to ischemic injury in isolated hearts. *Anesthesiology* 2003; 99: 385-91.
- Kitakaze M, Hori M, Morioka T et al. Infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning is blunted by inhibition of 5'-nucleotidase activity and attenuation of adenosine release. *Circulation* 1994; 89: 1237-46.
- Kloner RA, Speakman MT, Przyklenk K. Ischemic preconditioning: a plea for rationally targeted clinical trials. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 526-33.
- Ko SH, Lee SK, Han YJ et al. Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* 1997; 87: 68-74.
- Koti RS, Seifalian AM, Davidson BR. Protection of the liver by ischemic preconditioning: a review of mechanisms and clinical applications. *Dig Surg* 2003; 20: 383-96.
- Kribben A, Herget-Rosenthal S, Lange B et al. Stimulation of mitogen activated protein kinase and cellular proliferation in renal proximal tubular cells. *Renal Fail* 1998; 20: 229-34.
- Lahdesmaki J, Sallinen J, MacDonald E et al. Alpha2-adrenergic drug effects on brain monoamines, locomotion, and body temperature are largely abolished in mice lacking the alpha2A-adrenoceptor subtype. *Neuropharmacol* 2003; 44: 882-92.
- Laundenbach V, Mantz J, Lagercrantz H et al. Effects of α_2 -adrenoceptor agonists on perinatal excitotoxic brain injury: Comparison of clonidine and dexmedetomidine. *Anesthesiology* 2002; 96: 134-41.
- Lee HT, Emala CW. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A_1 and A_3 receptors. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: F380-7.

- Lee HT, Ota-Setlik A, Fu Y et al. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury *in vivo*. *Anesthesiology* 2004; 101: 1313-24.
- Liu GS, Thornton J, Winkle DM van et al. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A₁ adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-6.
- Liu Y, Tsuchida A, Cohen MV et al. Pretreatment with angiotensin II activates protein kinase C and limits myocardial infarction in isolated rabbits hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 883-92.
- Malbouisson LMS, Santos LM, Auler Jr JOC, Carmona MLC. Proteção miocárdica em cirurgia cardíaca. *Rev Bras Anesthesiol* 2005; 55: 558-74.
- Marangoni MA, Hausch A, Vianna PTG et al. Renal function and histology after acute hemorrhage in rats under dexmedetomidine action. *Acta Cir Brás* 2007; 21: 242-6.
- Maze M, Tranquilli W. Alpha-2 adrenoceptor agonists: defining the role in clinical anesthesia. *Anesthesiology* 1991; 74: 581-605.
- Mazze RI, Callan CM, Galvez ST et al. The effects of sevoflurane on serum creatinine and blood urea nitrogen concentrations: a retrospective, twenty-two-center, comparative evaluations of renal function in adult surgical patients. *Anesth Analg* 2000; 90: 683-8.
- Michel MC, Li Y, Heusch G. Mitogen-activated protein kinases in the heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2001; 363: 245-66.
- Mitchell MB, Meng X, Ao L et al. Preconditioning of isolated rat heart is mediated by protein kinase C. *Circ Res* 1995; 76: 73-81.
- Miura T, Ogawa T, Iwamoto T et al. Dipyridamole potentiates the myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning. *Circulation* 1992; 86: 979-85.
- Miyawaki H, Ashraf M. Ca²⁺ as mediator of ischemic preconditioning. *Circ Res* 1997; 80: 790-9.

Molajavi A, Preckel B, Comfere T et al. Effects of ketamine and its isomers on ischemic preconditioning in the isolated rat hearts. *Anesthesiology* 2000; 94: 623-9.

Moran SM, Myers BD. Course of acute renal failure studied by a model of creatinine kinetics. *Kidney Int* 1985;27:928-937.

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.

Müllenheim J, Fräßdorf J, Preckel B et al. Ketamine, but not S(+)-ketamine, blocks ischemic preconditioning in rabbits hearts *in vivo*. *Anesthesiology* 2001; 94: 630-6.

Nguyen MT, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* 2007;

Nord EP, Howard MJ, Hafezi A et al. Alpha2-adrenergic agonists stimulate Na⁺-H⁺ antiport activity in the rabbit renal proximal tubule. *J Clin Invest* 1987; 80: 1755-62.

Obal D, Scharbatke H, Barthel H et al. Cardioprotection against reperfusion injury is maximal with only two minutes of sevoflurane administration in rats. *Can J Anesth* 2003; 50: 940-5.

Obal D, Dettwiler S, Favoccia C et al. Effect of sevoflurane preconditioning on ischemia/reperfusion injury in the rat kidney *in vivo*. *Eur J Anaesthesiol* 2006; 23: 319-26.

Oldenburg O, Cohen MV, Yellon DM et al. Mitochondrial K(ATP) channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 429-37.

O'Rourke B. Evidence for mitochondrial K⁺ channels and their role in cardioprotection. *Circ Res* 2004; 94: 420-32.

Park KM, Kim JI, Ahn Y, Bonventre AJ et al. Testosterone is responsible for enhanced susceptibility of males to ischemic renal injury. *J Biol Chem* 2004; 279: 52.282-92.

- Pell TJ, Baxter GF, Yellow DM, Drew GM. Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 1998; 275: H1542-7.
- Riksen NP, Smits P, Rongen GA. Ischemic preconditioning: from molecular characterization to clinical application. Part I. *Neth J Med* 2004a; 62: 353-63.
- Riksen NP, Smits P, Rongen GA. Ischemic preconditioning: from molecular characterization to clinical application. Part II. *Neth J Med* 2004b; 62: 409-23.
- Riess ML, Kevin LG, Amadou C et al. Dual exposure to sevoflurane improves anesthetic preconditioning in intact hearts. *Anesthesiology* 2004; 100: 569-74.
- Rusafa Neto E, Vianna PTG, Viero RM et al. Influence of S(+)-ketamine analgesia in renal intraoperative ischemia. Histological study in rats. *Acta Cir Bras* 2006; 21(4): 242-6.
- Schultz JE, Hsu AK, Gross GJ. Ischemic preconditioning in the intact rat heart is mediated by delta1- but not mu- or kappa-opioid receptors. *Circulation* 1998; 97: 1282-9.
- Shanley PF, Rosen MD, Brezis M et al. Topography of focal proximal tubular necrosis after ischemia with reflow in the rat kidney. *Am J Pathol* 1986; 122: 462-8.
- Star RA. Treatment of acute renal failure. *Kidney Int* 1998; 54: 1817-31.
- Tanaka K, Ludwig LM, Kersten JR et al. Mechanisms of cardioprotection by volatile anesthetics. *Anesthesiology* 2004; 100: 707-21.
- Thornton JD, Liu GS, Olsson RA et al. Intravenous pretreatment with A1-selective adenosine analogues protects the heart against infarction. *Circulation* 1992; 85: 659-65.
- Toosy N, McMorris EL, Grace PA, Mathie RT. Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury. *BJU Int* 1999; 84: 489-94.

- Van Winkle DM, Chien GL, Wolff RA et al. Cardioprotection provided by adenosine receptor activation is abolished by blockade of the K_{ATP} channel. *Am J Physiol* 1994; 266: H829-39.
- Wang P, Gallagher KP, Downey JM et al. Pretreatment with endothelin-1 mimics ischemic preconditioning against infarction in isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 579-88.
- Xiong L, Zheng Y, Wu M et al. Preconditioning with isoflurane produces dose-dependent neuroprotection via activation of adenosine triphosphate-regulated potassium channels after focal cerebral ischemia in rats. *Anesth Analg* 2003; 96: 233-7.
- Yamashita J, Ogata M, Itoh M et al. Role of nitric oxide in the renal protective effects of ischemic preconditioning. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42: 419-27.
- Yao Z, Gross GJ. A comparison of adenosine-induced cardioprotection and ischemic preconditioning in dogs. Efficacy, time course, and role of K_{ATP} channels. *Circulation* 1994; 89:1229-36.
- Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 2003; 83 1113-51.
- Ytrehus K, Liu Y, Downey JM. Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. *Am J Physiol* 1994; 266: H1145-52.
- Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn D et al. Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K_{ATP} channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology* 2002; 97: 4-14.
- Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn D et al. Differential effects of anesthetics on mitochondrial K_{ATP} channels activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology* 2002; 97: 15-23.
- Zhao ZQ, Morris CD, Buddle JM et al. Inhibition of myocardial apoptosis reduces infarct size and improves regional contractile dysfunction during reperfusion. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 132-42.

Anexos

Tabela 4 – Peso, em grama, de cada rato dos grupos Sevo, Dex, *Sham* e Controle. Média e desvio padrão são apresentados

	GRUPO			
RATO	Sevo	Dex	<i>Sham</i>	Controle
1	380	330	380	440
2	500	330	400	480
3	390	300	390	460
4	420	380	430	430
5	340	400	450	400
6	340	390	340	410
7	370	440	330	440
8	380	370	330	450
9	340	400	370	370
10	490	410	410	480
Média	395	375	383	436
DP	59	43	41	35

Tabela 5 – Valores da creatinina plasmática, em mg.dL-1, de cada rato dos grupos Sevo, Dex, Sham e Controle. Média e desvio padrão são apresentados

RATO	GRUPOS							
	SEVO		DEX		SHAM		CONTROLE	
	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
1	0,4	4,4	0,3	2,1	0,3	0,7	0,3	5,0
2	0,4	0,8	0,3	9,2	0,3	0,8	0,3	4,6
3	0,3	4,2	0,2	0,9	0,4	0,7	0,4	11,1
4	0,3	0,7	0,3	2,4	0,2	0,6	0,5	3,3
5	0,3	0,8	0,3	6,1	0,3	0,6	0,5	4,8
6	0,3	0,9	0,2	1,2	0,3	0,6	0,3	9,4
7	0,2	0,7	0,2	5,5	0,3	0,7	0,4	1,6
8	0,2	0,9	0,2	1,8	0,4	0,8	0,4	4,4
9	0,4	0,6	0,3	0,8	0,4	0,6	0,4	5,7
10	0,3	0,7	0,2	2,4	0,4	0,8	0,5	1,5
Média	0,3	1,5	0,3	3,2	0,3	0,7	0,4	5,1
DP	0,1	1,5	0,1	2,8	0,1	0,1	0,1	3,1