

Antonio Roberto Carraretto

Estudo da proteção renal com o propofol e o isoflurano durante a isquemia e a reperfusão, com hiperglicemia transitória

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

Orientador: Prof. Titular Pedro Thadeu Galvão Vianna

Botucatu – SP

2011

Dedicatória

Ao Professor Doutor Pedro Thadeu Galvão Vianna
pelos exemplos e ensinamentos que me auxiliaram
na conquista de mais um importante marco
em minha vida.

A todas as pessoas que com gestos e atos fizeram
parte dessa realização.

Agradecimentos

À instituição UNESP – Universidade Estadual Paulista
por oferecer acesso ao ensino e pesquisa de qualidade.

Aos professores do Departamento de Anestesiologia da
Faculdade de Medicina de Botucatu pelos ensinamentos
ministrados com carinho e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Anestesiologia da
Faculdade de Medicina de Botucatu que me atenderam com
dedicação e presteza no exercício de suas atividades.

Aos professores e funcionários UNESP que de modo
direto ou indireto colaboraram nos exames, avaliação estatística
e outras etapas que contribuíram para essa pesquisa.

Carraretto AR. Estudo da proteção renal com o propofol e o isoflurano durante a isquemia e a reperfusão, com hiperglicemia transitória. Botucatu, 2011. 75p. Tese (Doutorado em Anestesiologia) – Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

Justificativa e Objetivo: A hiperglicemia aumenta a lesão renal na isquemia-reperfusão em ratos anestesiados com isoflurano (Iso). Este efeito é desconhecido com o uso do propofol (Prop). O objetivo desse estudo é avaliar o efeito do isoflurano (Iso) e do propofol na lesão renal de isquemia-reperfusão na presença de hiperglicemia transitória. **Método:** Utilizou-se 36 ratos Wistar machos, distribuídos de modo aleatório em seis grupos de seis animais, designados: **PHS** (Prop + Hiperglicemia - *Sham*); **IHS** (Iso + Hiperglicemia - *Sham*); **PHI** (Prop + Hiperglicemia + Isquemia); **IHI** (Iso + Hiperglicemia + Isquemia); **PI** (Prop + Isquemia) e **II** (Iso + Isquemia). A anestesia foi mantida com isoflurano (1,5 a 2%) (IHS, IHI e II) ou propofol ($1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) (PHS, PHI e PI). A pressão arterial média (PAM) foi medida para o controle da anestesia. A hiperglicemia foi induzida com a injeção de $2,5 \text{ g.kg}^{-1}$ de solução de glicose por via intraperitoneal. Todos os animais foram submetidos à nefrectomia direita. Os dois grupos “*sham*” foram submetidos à hiperglicemia. Os demais grupos foram submetidos à isquemia renal por 25 minutos. Os valores plasmáticos da glicose e da creatinina foram determinados no início (M1), no final do experimento (M2) e 24 horas após o final do experimento (M3), quando os animais retornaram ao laboratório e foram anestesiados com isoflurano para coleta de uma nova amostra sanguínea e nefrectomia esquerda, para análise histológica, com o uso de uma escala para avaliação da necrose tubular (0 a 5 = lesão máxima), e avaliação por citometria de fluxo, para determinação dos percentuais da apoptose inicial (APT_i) e de células viáveis (VC). Houve tratamento estatístico para os valores da PAM, glicose e creatinina plasmáticas, escore de lesão histológica e avaliação da citometria de fluxo,

sendo as diferenças consideradas significantes quando $<0,05$. **Resultados:** A glicemia (mg.dL^{-1}) em M2 foi maior nos grupos **PHS** ($351,8 \pm 141,0$) e **IHI** ($348,3 \pm 52,3$) em relação aos grupos **PI** ($147,0 \pm 62,4$) e **II** ($162,7 \pm 40,2$). Os grupos **IHS** ($302,5 \pm 80,0$) e **PHI** ($308,5 \pm 74,5$) mostraram valores intermediários. A creatinina plasmática (mg.dL^{-1}) foi estatisticamente diferente em M3 nos grupos **PHI** ($3,60 \pm 0,80$) e **IHI** ($3,23 \pm 2,16$) em relação aos demais grupos: **PHS** ($0,95 \pm 0,27$), **IHS** ($0,62 \pm 0,12$), **PI** ($0,88 \pm 0,38$) e **II** ($1,42 \pm 1,00$). O exame histológico mostrou que os grupos **PHS** ($0,0[0,0;1,0]$) e **IHS** ($0[0,0;0,0]$) apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação aos grupos **PHI** ($4,0[4,0;5,0]$) e **IHI** ($4,5[4,0;5,0]$) (medianas e quartis entre colchetes). Os grupos **PI** ($3,0[1,0;3,0]$) e **II** ($2,0[1,0;3,0]$) mostraram valores intermediários. A citometria de fluxo mostrou diferenças estatisticamente significantes dos percentuais da APTi entre os grupos **PHS** ($9,9 \pm 6,6$), **IHS** ($9,9 \pm 6,6$), **PI** ($15,7 \pm 22$) e **II** ($15,8 \pm 17,2$) e os grupos **PHI** ($73,2 \pm 14,2$) e **IHI** ($48,1 \pm 27,9$). O percentual de células viáveis foi estatisticamente significante maior nos grupos **PHS** ($80,8 \pm 8,1$), **IHS** ($79,9 \pm 3,4$) e **II** ($77,0 \pm 18,4$) em relação aos grupos **PHI** ($25,8 \pm 13,8$) e **IHI** ($38,5 \pm 18,4$). O grupo **PI** ($67,7 \pm 27,2$) mostrou valores intermediários. **Conclusões:** Nesse modelo de isquemia-reperfusão renal em rato, tanto o propofol quanto o isoflurano conferiram o mesmo grau de atenuação da lesão renal. Entretanto, houve intensa lesão renal quando a hiperglicemia transitória foi acrescentada a isquemia-reperfusão renal. Desse modo, conclui-se que em ratos anestesiados com isoflurano ou propofol a hiperglicemia transitória foi a responsável pelo aumento da lesão de isquemia-reperfusão renal.

Palavras-chave: Hiperglicemia; Isquemia; Reperfusão; Pré-condicionamento; Isoflurano; Propofol; Lesão renal; Rim; Rato.

Carraretto AR. A study of kidney protection with propofol and isoflurane during ischemia and reperfusion with transient hyperglycemia. Botucatu, 2011. 75p. Thesis (PhD degree in Anesthesiology) - Botucatu Medical School. São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho".

ABSTRACT

Background: The hyperglycemia augments the renal ischemic-reperfusion injury (IRI) in rats anesthetized with isoflurane (Iso). This effect with propofol (Prop) is unknown. The purpose of this investigation was to examine the effect of isoflurane and propofol in renal ischemia/reperfusion injury (IRI) during transient hyperglycemia. **Methods:** Rats were randomly assigned in six groups of six animals, groups: **PHS** (Prop + Hyperglycemia - *Sham*); **IHS** (Iso + Hyperglycemia - *Sham*); **PHI** (Prop + Hyperglycemia + Ischemia); **IHI** (Iso + Hyperglycemia + Ischemia); **PI** (Prop + Ischemia) and **II** (Iso + Ischemia). Propofol in a dose of $1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ (PHS, PHI and PI) or saline was infused (IHS, IHI and II). Mean arterial pressure (MAP) was monitored for anesthesia control. Hyperglycemia was induced with the injection of 2.5 g.kg^{-1} of glucose solution. All animals underwent to right nephrectomy. The two *sham* groups underwent to hyperglycemia with ischemia. The others groups were submitted to a left renal ischemia for 25 minutes. Serum creatinine and glucose values were determined in the beginning (M1) and at the end of experiment (M2) and 24 hours after the experiment (M3) rats were anesthetized with isoflurane and blood sample was collected and the left kidney removed for histological analysis, using a scale for tubular necrosis (0-5 = injury maximum). In addition to a histological study, cells from the left kidney were evaluated for apoptosis by flow cytometry (FCM) as a % of initial apoptosis (APT_i) and viable cell (VC). Statistical analysis were applied to the values of MAP, serum creatinine and glucose, histological score injury and FCM and statistical differences were considered when $p < 0.05$. **Results:** Serum glucose at M2 was higher in **PHS** (351.8 ± 141.0) and **IHI** (348.3 ± 52.3) in relation to groups **PI** (147.0 ± 62.4) and **II** (162.7 ± 40.2). Groups **IHS** (302.5 ± 80.0) and **PHI** (308.5 ± 74.5) showed

Abstract

intermediary values. Serum creatinine (mg.dL^{-1}) was statistically different in M3 in groups **PHI** (3.60 ± 0.80) and **IHI** (3.23 ± 2.16) in relation to the other groups: **PHS** (0.95 ± 0.27), **IHS** (0.62 ± 0.12), **PI** (0.88 ± 0.38) and **II** (1.42 ± 1.00). Histological examination showed that the groups **PHS** ($0.0[0.0;1.0]$) and **IHS** ($0[0.0;0.0]$) were statistically significant different from the groups **PHI** ($4.0[4.0;5.0]$) and **IHI** ($4.5[4.0;5.0]$) (median and quartiles in brackets). Groups **PI** ($3.0[1.0;3.0]$) and **II** ($2.0[1.0;3.0]$) showed intermediary values. FCM showed statistically significant differences of APTi between groups **PHS** (9.9 ± 6.6), **IHS** (9.9 ± 6.6), **PI** (15.7 ± 22) and **II** (15.8 ± 17.2) and the groups **PHI** (73.2 ± 14.2) and **IHI** (48.1 ± 27.9). VC percentage were statistically higher in groups **PHS** (80.8 ± 8.1), **IHS** (79.9 ± 3.4) and **II** (77.0 ± 18.4) in relation to the groups **PHI** (25.8 ± 13.8) e **IHI** (38.5 ± 18.4 B). The **PI** group (67.7 ± 27.2) showed an intermediary position. **Conclusions:** In this rat model of transient hyperglycemia, Prop and Iso had the same protection to IRI in normoglycemic groups and increased IRI in hyperglycemic animals. Transient hyperglycemia is associated with an increase IRI.

Keywords: Hyperglycemia; Ischemia; Reperfusion; Preconditioning; Isoflurane; Propofol; Kidney injury; Kidney; Rat

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1 INTRODUÇÃO E LITERATURA.....	13
1.1 O FENÔMENO DA ISQUEMIA E REPERFUSÃO (I/R).....	14
1.2 O PRÉ-CONDICIONAMENTO.....	15
1.2.1 Pré-condicionamento isquêmico.....	16
1.2.2 Pré-condicionamento farmacológico.....	22
1.3 A HIPERGLICEMIA.....	30
2 OBJETIVO.....	36
3 MATERIAL E MÉTODO.....	38
3.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	38
3.2 SEQUÊNCIA EXPERIMENTAL.....	40
3.3 ATRIBUTOS ESTUDADOS	42
3.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	43
3.5 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR (APOPTOSE).....	43
3.6 MOMENTOS ESTUDADOS.....	44
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
4 RESULTADOS.....	47
4.1 PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM).....	47
4.2 GLICEMIA.....	48
4.3 CREATININA.....	49
4.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	50
4.5 CITOMETRIA DE FLUXO (CF).....	51
4.5.1 Apoptose inicial (APTi).....	51
4.5.2 Células viáveis (CV).....	52
5 DISCUSSÃO.....	54
5.1 MODELO ANIMAL.....	54
5.2 ISQUEMIA/REPERFUSÃO (I/R).....	55
5.3 PRÉ-CONDICIONAMENTO.....	56
5.4 HIPERGLICEMIA.....	57
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
7 CONCLUSÃO.....	64
8 REFERÊNCIAS.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Descrição dos grupos quanto à presença de hiperglicemia, isquemia renal esquerda, fármaco para a manutenção da anestesia e número de animais.....	40
Tabela 2	Escores dos graus de lesão celular atribuídos aos exames histológicos.....	43
Tabela 3	Valores da média e desvio-padrão referentes à PAM (mmHg) segundo momentos e grupos.....	47
Tabela 4	Valores da média e desvio-padrão referentes à glicemia (mg.dL ⁻¹) segundo momentos e grupos.....	48
Tabela 5	Valores da média e desvio-padrão referentes à creatinina (mg.dL ⁻¹) segundo momentos e grupos.....	49
Tabela 6	Mediana, 1 ^o e 3 ^o quartil referentes aos escores da intensidade da lesão segundo os grupos.....	50
Tabela 7	Valores da média e desvio-padrão ($\pm$ SD) dos percentuais (%) de células com apoptose inicial (APTi) entre os grupos	51
Tabela 8	Valores da média e desvio-padrão ($\pm$ SD) dos percentuais (%) de células viáveis entre os grupos.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento clássico.....	17
Figura 2	Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento tardio.....	18
Figura 3	Aderência celular leucócito-endotelial e transmigração após a I/R.....	21
Figura 4A	Mecanismo celular do pré-condicionamento isquêmico.....	23
Figura 4B	Mecanismo celular do pré-condicionamento pelos anestésicos voláteis halogenados.....	23
Figura 5	Fórmula estrutural do 2,6 diisopropilfenol (propofol).....	27
Figura 6	Fórmula estrutural do alfa-tocoferol (vitamina E).....	27
Figura 7	Valores da glicemia (mg.dL^{-1}) nos três momentos dos seis grupos estudados.....	48
Figura 8	Valores da creatinina (mg.dL^{-1}) nos três momentos dos seis grupos estudados.....	49
Figura 9	Escore da avaliação histológica da lesão celular nos seis grupos estudados.....	50
Figura 10	Percentual (%) de APTi nos seis grupos estudados.....	51
Figura 11	Percentual (%) de células viáveis nos seis grupos estudados.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APTi	Apoptose inicial
ATP	Adenosina tri-fosfato
CAT	Catalase
COX ₂	Ciclo-oxigenase 2
DAG	Diacylglicerol (<i>Diacylglycerol</i>)
DMOS	Disfunção de múltiplos órgãos e sistemas
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial (<i>endotelial Nitric Oxide Synthase</i>)
HSP	Proteínas de choque térmico (<i>Heat Shock Protein</i>)
ICAM-1	(<i>intercellular adhesion molecule 1</i>)
I/R	Isquemia-reperfusão
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível (<i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>)
ITP	Tri-fosfato de inositol (<i>Inositol triphosphate</i>)
LRA	Lesão renal aguda
MAPKs	Proteínas cinases ativadas por mitógenos (<i>Mitogen-Activated-Protein kinases</i>)
MDA	Malondialdeído
(mito K _{ATP}) ou K _{ATP}	Canal de potássio (K ⁺)(mitocondrial) sensível à adenosina tri-fosfato
MnSOD	Superóxido dismutase manganês (<i>Mn Superoxide Dismuthase</i>)
MPTP	Poros mitocondrial de transição permeável (<i>Mitochondrial permeability transition pore</i>)
NF-kappa B	Fator nuclear kappa-Beta (<i>Nuclear Factor-kappaBeta</i>)
nNOS	Óxido nítrico sintase neural (<i>neural Nitric Oxide Synthase</i>)
NO	Óxido nítrico (<i>Nitric Oxide</i>)
NOS	Óxido nítrico sintase (<i>Nitric Oxide Synthase</i>)
PCI	Pré-condicionamento isquêmico
PECAM-1	(<i>platelet-endothelial cell adhesion molecule 1</i>)
PI3K	Enzima fosfatidilinositol-3-cinase (<i>Phosphatidyl-inositol-3-kinase</i>)
PIP2	Bifosfato de fosfatidil inositol (<i>Phosphatidyl</i>)
PGSL-1	(<i>P-selectin glycoprotein 1</i>)
PKC _(-E)	Proteína cinase C _(-E= ÉPSILON) (<i>Protein-kinase C_(-E)</i>)
PLC	Fosfolipase C (<i>Phospholipase C</i>)
Proteína Gi	Proteína G inibitória ligada ao nucleotídeo guanina (<i>Guanine nucleotide-binding regulatory proteins</i>)
PTKs	Proteínas tirosina cinases (<i>Protein Tyrosine Kinases</i>)
ROS	Espécies reativas de oxigênio (<i>Reactive Oxygen Species</i>)
SOD	Superóxido dismutase
SRIS	Síndrome de resposta inflamatória sistêmica
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral-alfa (<i>Tumoral Necrosis Factor-alfa</i>)
UTI	Unidade de terapia intensiva

1 INTRODUÇÃO E LITERATURA

O rim é um dos órgãos mais sensíveis à isquemia e sua consequente lesão, por vezes irreversível, levando grandes danos para o paciente. Na prática, a lesão renal aguda (LRA) é um quadro comum entre os pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos, como transplante renal, revascularização do miocárdio e cirurgias de aneurismas. A lesão isquêmica ao rim é associada à alta morbidade e mortalidade, portanto, melhorar a capacidade deste órgão em tolerar a lesão isquêmica é de grande importância para a diminuição destes índices (Bonventre, 2002).

A hiperglicemia aguda está associada ao aumento da morbidade e da mortalidade em pacientes com trauma, colapso cardiovascular e submetidos à cirurgia cardíaca, pelo aumento do estresse oxidativo nos órgãos isquêmicos (Ouattara et al., 2005; Di Filippo et al., 2006; Esposito et al., 2006; Bemeur et al., 2007; Kamada et al., 2007).

A escolha de técnicas anestésicas, com fármacos que propiciem melhor proteção contra os efeitos da isquemia e da reperfusão, tem sido objeto de estudo há várias décadas desde os estudos iniciais de Spieckermann et al., em 1969.

Devido ao número crescente da população de pacientes diabéticos e a sua maior vulnerabilidade aos efeitos nocivos dos episódios de isquemia-reperfusão (I/R), conhecendo-se os efeitos protetores de fármacos anestésicos, se resolveu verificar a existência de proteção do propofol e do isoflurano, sobre os rins de ratos hiperglicêmicos, usando um modelo renal de I/R.

Para o melhor entendimento desta pesquisa, a sua abordagem inicial será descrita em três tópicos: o fenômeno da isquemia e reperfusão, o pré-condicionamento e a hiperglicemia.

1.1 O FENÔMENO DA ISQUEMIA E REPERFUSÃO (I/R)

A isquemia é a restrição do fluxo sanguíneo para um tecido orgânico, uma das causas da hipóxia tecidual, que contribui para a fisiopatologia de muitas situações presenciadas pelos anestesiológicos como o infarto do miocárdio, a insuficiência vascular periférica, o colapso cardiovascular e o choque hipovolêmico. Quando um tecido é submetido à isquemia, vários eventos químicos são ativados e o resultado final pode ser a disfunção celular ou a necrose.

Quando a isquemia é interrompida e o fluxo sanguíneo é restaurado e uma segunda série de eventos pode produzir uma lesão adicional – a lesão da reperfusão.

A reperfusão é a restauração do fluxo sanguíneo para um tecido isquêmico, essencial para a prevenção da lesão celular irreversível. A reperfusão pode aumentar a lesão tecidual a um grau maior do que a produzida pela própria isquemia (Collard & Gelman, 2001). Isso significa que, quando ocorre uma diminuição transitória ou uma interrupção no fluxo sanguíneo, a lesão é proveniente de dois componentes: o componente direto da isquemia e o componente indireto da reperfusão (Weber & Schlack, 2008).

O fenômeno isquemia e reperfusão (I/R) é complexo e, como na *sepsis*, induz a uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS). O desenvolvimento de uma SRIS pode ser dividido em três estágios. No primeiro estágio ocorre uma resposta a uma lesão, primariamente destinada a evocar uma resposta inflamatória, para promover a reparação celular local pelas células recrutadoras dos sistemas reticuloendotelial e imunológico. No segundo estágio ocorre a liberação de pequenas quantidades de citocinas, na circulação sistêmica, para aumentar a resposta local. Essa resposta de fase aguda geralmente é controlada por antagonistas pró-inflamatórios endógenos e citocinas. Mediadores imunológicos são mantidos para verificar a sub-regulação e o antagonismo. Geralmente esse processo local continua até que o foco incitatório seja resolvido. Ocasionalmente, entretanto, o terceiro estágio pode se desenvolver. Essa reação sistêmica maciça resulta mais em

destruição do que proteção, devido ao desequilíbrio das citocinas pró e anti-inflamatórias, a formação de radicais livres de oxigênio e a ativação de leucócitos. Este quadro comumente pode progredir para a falência múltipla de órgãos e a morte (Haukoos et al., 2007).

A interação dos dois eventos, isquemia e reperfusão, ocorre com frequência em muitas situações nos pacientes cirúrgicos como, por exemplo, nos transplantes de órgãos, na angioplastia coronariana, na cirurgia de revascularização do miocárdio, nas cirurgias com o clampeamento da aorta e na terapia trombolítica. Dependendo da gravidade, o fenômeno “isquemia-reperfusão” pode provocar uma resposta inflamatória sistêmica ou até uma “síndrome de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas” (DMOS), responsável por 30 a 40% da mortalidade em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) de hospitais terciários (Neary & Redmond, 1999).

Parks & Granger (1986) demonstraram que as lesões com alterações histológicas, após três horas de isquemia intestinal em felinos, seguidas de uma hora de reperfusão foram mais graves do que as observadas após quatro horas de isquemia sem a reperfusão.

A lesão isquêmica no cérebro, coração e rim está associada a uma alta morbidade e mortalidade. Melhorar a tolerância destes órgãos à isquemia pode ter melhores resultados para os pacientes (Thadhani et al., 1996).

Existe uma quantidade significativa de dados que sugerem a existência de mecanismos intrínsecos, nos órgãos expostos às agressões tóxicas ou isquêmicas, que os protegem contra as lesões subsequentes (Bonventre, 2002).

A pesquisa de fármacos e técnicas utilizadas na anestesia, que ofereçam melhor proteção contra a lesão renal, tem sido objeto de estudos.

1.2 O PRÉ-CONDICIONAMENTO

Foi denominado “pré-condicionamento” o mecanismo (ou a técnica) que prepare o órgão ou tecido para melhor suportar os efeitos lesivos da I/R. Os

primeiros e a maioria dos estudos sobre pré-condicionamento foram realizados em corações “*in vivo*” ou isolados de animais (Weber & Schlack, 2008).

1.2.1 Pré-condicionamento isquêmico

Em 1986, Murry et al. realizaram estudo utilizando quatro períodos de cinco minutos de isquemia por oclusão coronariana, seguidos de quatro períodos de cinco minutos de reperfusão, antes de um período de 40 minutos de oclusão, e observaram redução de 75% do tamanho do infarto, em relação ao grupo controle que sofreu apenas a isquemia por um período de 40 minutos. Esta observação, de que breves episódios de isquemia no coração, que ocorrem antes de uma interrupção de maior duração do fluxo sanguíneo e que conferem proteção contra disfunção e necrose do órgão, foi chamada de “pré-condicionamento isquêmico” (PCI).

Posteriormente observou-se que alguns fármacos podem conferir uma proteção, semelhante ao PCI, e a esse processo denominou-se “pré-condicionamento farmacológico” (PCF), a ser descrito nesse estudo.

Investigações clínicas e laboratoriais demonstraram que períodos de isquemia únicos ou múltiplos, desde que breves, não seriam necessariamente lesivos e, pelo contrário, poderiam proteger contra a agressão isquêmica prolongada subsequente (Wartier et al., 2002).

Assim, no miocárdio, estes breves períodos de isquemia parecem “pré-condicionar” o tecido contra a lesão tecidual reversível ou irreversível, incluindo o atordoamento do miocárdio, o infarto e o desenvolvimento de disritmias ventriculares malignas. Este processo, o PCI, resulta em períodos finitos nos quais o miocárdio estará protegido quando ocorrer um curto período de isquemia (Wartier et al., 2002).

Riksen et al. (2004) descreveram o PCI dividido em duas fases: 1) O PCI clássico, ou “precoces”, que ocorre em uma fase inicial e persiste por uma ou duas horas e; 2) O PCI “tardio” que se inicia entre 12 e 24 horas após a isquemia e tem duração de aproximadamente 72 horas.

Na fase inicial, os eventos desencadeados pela isquemia levam a abertura dos canais de potássio sensíveis à adenosina tri-fosfato (K_{ATP}) e preservam os níveis intracelulares de adenosina tri-fosfato (ATP). Durante o estímulo pré-condicionante, vários “gatilhos” (ativadores) são liberados e promovem a ativação de uma cascata de sinalização complexa, incluindo a enzima fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K), as proteínas cinase C (PKC) e tirosina cinase (PTKs) e as proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPKs). Esta cascata de sinalização inibe a abertura do poro de transição de permeabilidade mitocondrial (MPTP) por meio da abertura do canal de potássio sensível a adenosina tri-fosfato (K_{ATP}) e a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS). A figura 1, adaptada de Riksen et al., (2004), mostra parte deste complexo mecanismo protetor.

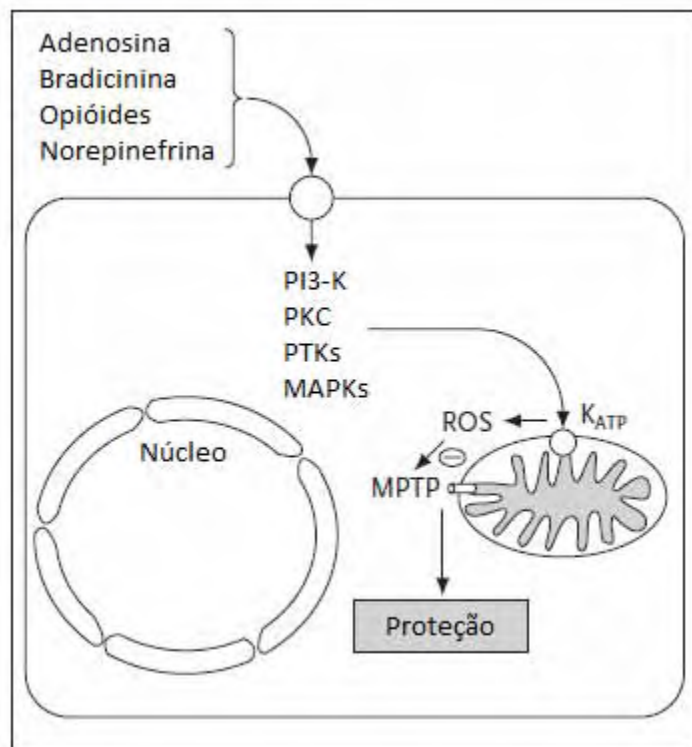


Figura 1 - Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento clássico.

K_{ATP} = canal de potássio sensível à adenosina tri-fosfato; MAPKs= proteínas cinases ativadas por mitógenos; MPTP= poro de transição de permeabilidade mitocondrial; PI3K= enzima fosfatidilinositol-3-cinase; PKC= proteína cinase C; PTKs = proteínas tirosina cinases; ROS= espécies reativas de oxigênio (Adaptado de Riksen et al., 2004)

Em química e bioquímica as cinases são conhecidas como fosfotransferases, ou seja, um tipo de enzima que transfere grupos fosfatos de doadores de moléculas de grande energia, como o ATP, para substratos específicos, por um processo denominado fosforilação. Um dos maiores grupos de cinases são as proteínas cinases, que têm papel importante na transmissão de sinais e controle de processos celulares complexos (Manning et al., 2002).

Na fase tardia, diferente do pré-condicionamento clássico, a síntese de proteínas citoprotetoras é adicionada aos mesmos efeitos da fase inicial e o óxido nítrico (NO) é um importante gatilho para a proteção. A ativação do regulador de transcrição, fator de necrose tumoral kappa-Beta (NF- κ B), leva a um aumento na transcrição de várias proteínas. A abertura do canal K_{ATP} (canal de potássio sensível à adenosina tri-fosfato) é necessária para a limitação do infarto, mas como esses canais são abertos ainda é um motivo para debates. A figura 2, adaptada de Riksen et al., (2004), mostra essa fase.

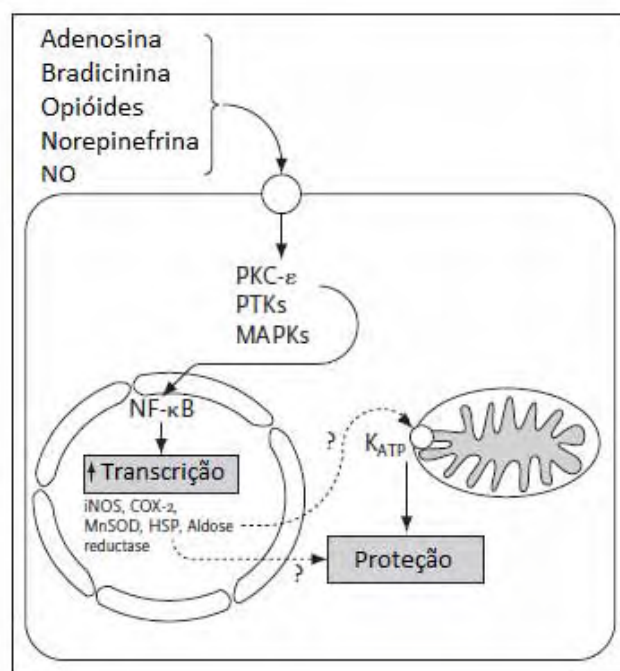


Figura 2 - Representação simplificada do mecanismo de pré-condicionamento tardio.

COX-₂= ciclo-oxigenase 2; HSP= proteína de choque térmico; iNOS= óxido nítrico sintase induzível; K_{ATP} = canal de potássio sensível à adenosina tri-fosfato; MAPKs= proteínas cinases ativadas por mitógenos; MnSOD= superóxido dismutase manganês; NF- κ B= fator de necrose tumoral kappa-Beta; NO= óxido nítrico; PI3K= enzima fosfatidilinositol-3-cinase; PKC- ϵ = proteína cinase C épsilon; PTKs= proteínas tirosina cinases (Adaptado de Riksen et al., 2004).

O óxido nítrico (NO) é uma molécula de radical livre que foi identificada como sinalizadora biológica, com efeitos inter e intracelulares, produzido a partir da L-arginina, gerada pela conversão intracelular de aminoácidos semelhantes às glutaminas. Essa conversão é realizada pela enzima óxido nítrico sintase (NOS), a qual se apresenta em três isoformas: neural (nNOS), endotelial (eNOS) e induzível (iNOS). O NO, também conhecido como “fator de relaxamento derivado do endotélio”, produz vasodilatação (Bouchard & Lamontagne, 1996), regula o tônus vascular e previne a adesão e a 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).

A gravidade da lesão isquêmica depende do período de duração da isquemia e pode ser modificada por intervenções realizadas antes da isquemia, como o PCI.

Muitos fármacos podem disparar a proteção tardia, simulando o PCI, entre eles, os agonistas seletivos dos receptores adenosina A1 e A3, os doadores de NO exógeno, as substâncias geradoras de espécies reativas de oxigênio (ROS), a bradicinina, os agonistas delta-opiídeos e a norepinefrina fornecem proteção tardia ao infarto (Yellon & Downey, 2003).

Além disso, a isquemia pode induzir a 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 iNOS derivada do NO endógeno, provavelmente não está envolvida no PCI clássico (Bolli, 2001).

Durante o PCI a reperfusão é fundamental para o desenvolvimento do mecanismo protetor, porém ocorre a conhecida lesão de reperfusão ocasionada pela lesão irreversível de algumas células (Heyndrickx, 2006).

O PCI é um mecanismo protetor endógeno e fundamental contra a lesão tecidual, presente em todas as espécies animais nas quais foi estudado. Apesar de o PCI ser mais caracterizado no coração, também é válido para

outros tecidos. Vários estudos em humanos demonstram que o pré-condicionamento reduz a lesão subsequente no coração, fígado, pulmão, cérebro e músculo esquelético (Pasupathy & Homer-Vanniasinkam, 2005).

Apesar de existirem estudos, *in vitro* e *in vivo*, no homem utilizando alguns marcadores para estudar o efeito do PCI sobre o miocárdio (Kloner et al., 2002), deve-se considerar 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.

A reperfusão do tecido isquêmico é necessária para salvá-lo da eventual necrose. Entretanto, a reperfusão, mesmo após pequenos períodos de isquemia, está associada às alterações patológicas que representam uma aceleração do processo, iniciado durante a isquemia “*per-si*” ou às novas alterações fisiopatológicas que foram iniciadas após a reperfusão. No miocárdio, essa “lesão de reperfusão” apresenta várias das características das respostas inflamatórias. Os neutrófilos desempenham um papel importante nesses componentes inflamatórios da lesão pós-isquêmica. A I/R propicia a liberação de ROS, citocinas e outros mediadores pró-inflamatórios que ativam os neutrófilos e o endotélio vascular. A ativação desses tipos celulares promove a expressão de moléculas de adesão nos neutrófilos e no endotélio, que recruta neutrófilos para a superfície do endotélio, e inicia uma cascata específica de interação célula a célula, levando inicialmente a aderência de neutrófilos ao endotélio vascular seguida da migração trans-endotelial e a interação direta com os miócitos. O acúmulo de neutrófilos e plaquetas na parede do vaso resulta em obstrução microvascular, com consequente isquemia. Os neutrófilos fora dos vasos liberam enzimas, citocinas e substâncias pró-inflamatórias com agravamento da lesão endotelial, da musculatura lisa e dos miócitos (Jordan et al., 1999).

A I/R resulta na ativação de leucócitos, quimiotaxia, adesão celular leucócito-endotélio e transmigração. Os leucócitos interagem com o endotélio vascular em etapas caracterizadas pelo: 1) “rolamento leucocitário” no endotélio, 2) aderência leucocitária ao endotélio e 3) transmigração endotelial (Figura 3). Uma interação subsequente dos leucócitos b2 integrinas, como a

CD11A/CD18, com moléculas de adesão promove uma aderência leucocitária e a parada da movimentação. A transmigração leucocitária para o compartimento intersticial é facilitada pela molécula 1 de adesão celular plaqueta-endotelial (PECAM-1). Ao chegar ao compartimento extravascular, os leucócitos ativados liberam ROS, proteases e elastases, resultando em um aumento da permeabilidade microvascular, edema, trombose e morte celular parenquimatosa (Collard & Gelman, 2001).

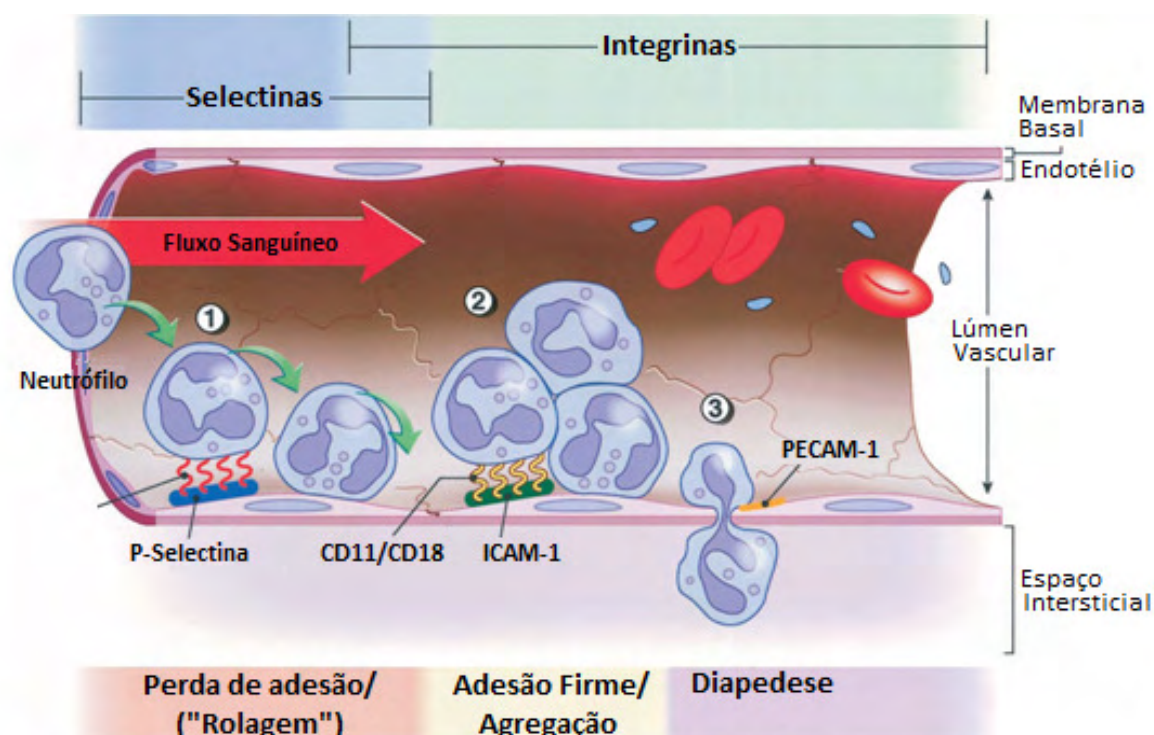


Figura 3 – Aderência celular leucócito-endotelial e transmigração após a I/R.

Os leucócitos ativados interagem com o endotélio vascular em fases distintas. A fase 1, a de “rolamento”, é iniciada pela indução do aumento endotelial da expressão de P-selectina que interage, no leucócito, com o seu contra-receptor – a P-selectina glicoproteína-1 (PGSL-1). Na fase 2, a interação leucócito-integrina b2 (CD11a/CD18 e CD11b/CD18) com a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) leva a uma firme aderência e agregação leucocitária. A fase 3 é caracterizada por transmigração leucocitária para o interstício, facilitada pela molécula 1 de adesão celular plaqueta-endotelial (PECAM-1), dentro das junções das células endoteliais (Collard & Gelman, 2001).

A proteção oferecida pelo pré-condicionamento, em rins de animais, contra a lesão renal aguda (LRA) é profunda e reprodutível. Como a LRA,

associada com a isquemia, está ligada a um alto índice de mortalidade é importante entender como o rim utiliza um processo endógeno para proteger-se. Portanto, deve-se entender este processo para que se possa mimetizar, com influências exógenas, e alterar as causas de doenças que continuam associadas com um elevado índice de mortalidade (Bonventre, 2002).

1.2.2 Pré-condicionamento farmacológico

Spieckermann et al. (1969) revelaram os benefícios do uso dos anestésicos voláteis halogenados durante a isquemia miocárdica. Durante a anestesia com o halotano, foi encontrada uma tolerância prolongada à isquemia global e um aumento da preservação de componentes de alta-energia em coração de cães.

Estudos demonstraram que os anestésicos voláteis halogenados reduzem a demanda de oxigênio durante a isquemia, reduzindo a lesão isquêmica (Davis et al., 1983; Buljubasic et al., 1992, 1993).

Como não se conseguiu relacionar os efeitos anti-isquêmicos de anestésicos voláteis halogenados com a melhora no equilíbrio miocárdico entre suprimento e demanda de oxigênio, levantou-se o conceito de que tais agentes poderiam ter propriedades cardioprotetoras diretas (Kersten et al., 1996).

Em 1996, Schlack et al. relataram uma proteção específica, contra a lesão de reperfusão do miocárdio, conferida pelo halotano. Enquanto os estudos anteriores não discriminaram entre os efeitos anti-isquêmicos e os efeitos protetores contra a lesão de I/R, esse estudo demonstrou, pela primeira vez, uma modificação das condições de reperfusão, pela administração de um anestésico halogenado, que reduziu o grau da lesão de reperfusão.

Muitos fármacos utilizados na anestesia conferem proteção aos órgãos por meio de mecanismos semelhantes, ou dividem vias de ativação-inibição, ao pré-condicionamento isquêmico.

Lorsomradee et al. (2008) propõem algumas semelhanças entre o pré-condicionamento isquêmico e o pré-condicionamento farmacológico produzido pelos anestésicos voláteis halogenados (Figuras 4A e 4B).

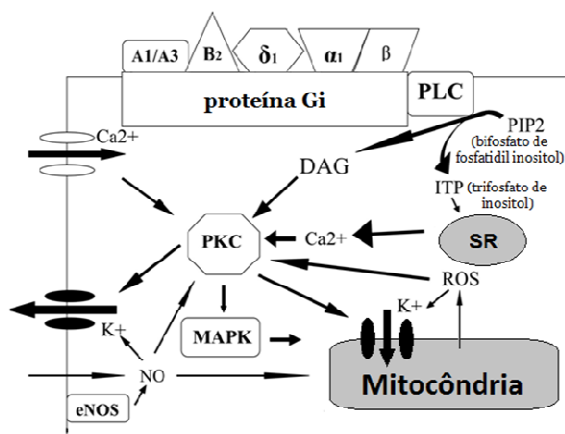


Figura 4A – Mecanismo celular do pré-condicionamento isquêmico (Adaptado de Lorsomradee et al., 2008.

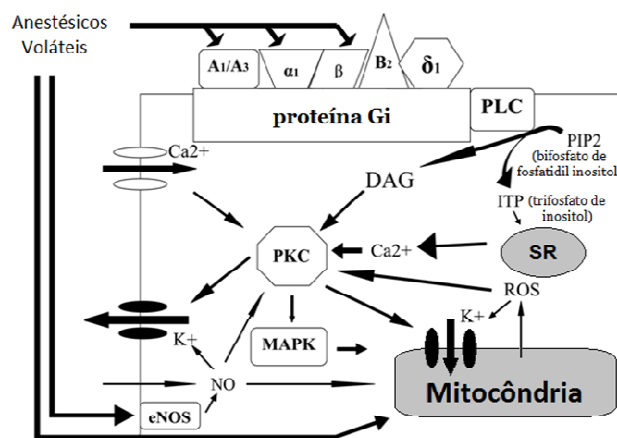


Figura 4B – Mecanismo celular do pré-condicionamento pelos anestésicos voláteis halogenados (Adaptado de Lørsomradee et al., 2008).

A1/A3= receptores de adenosina A₁ e A₃, B₂= bradicinina, δ₁= receptor opióide, α₁= receptor adrenérgico, β= receptor adrenérgico, DAG= diacilglicerol, Gi= proteína G inibitória ligada ao nucleotídeo guanina, PLC= fosfolipase C, ITP= 1,4,5 trifosfato de inositol, MAPK= proteína cinase ativada por mitógeno, NO= óxido nítrico, eNOS= óxido nítrico sintase endotelial, PIP₂= bifosfato de fosfatidil inositol, PKC= proteína cinase C, ROS= espécies relativas de oxidação, SR= retículo sarcoplasmático, Ca²⁺= cálcio, K⁺= potássio [adaptada de Lörsmann et al., 2008].

A ativação dos receptores de adenosina A_1 e A_3 ($A1/A3$), bradicinina (B_2), δ_1 opióide (δ_1), α_1 -adrenérgico (α_1) e β -adrenérgico estimulam a fosfolipase C (PLC) por meio da inibição da proteína G_i (proteína G_i =nucleotídeo de guanina ligado a proteínas). A PLC produz diacilglicerol (DAG) e 1, 4, 5 trifosfato de inositol (ITF). O DAG e o ITF ativam a proteína cinase C (PCK). A PCK atua abrindo canais de potássio sensíveis a ATP (canais K_{ATP}) e provavelmente via proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPK) (Lorsomradee et al., 2008).

As proteínas G são uma família de proteínas ligadas ao nucleotídeo guanina que apresentam homologia estrutural e estão acopladas aos receptores de superfície celular, com uma grande variedade de efetores intracelulares e segundos mensageiros. Elas participam da transdução de sinais inibitórios (Gi) ou estimulantes (Gs) entre as superfícies da membrana.

A abertura dos canais mitocondriais de K_{ATP} , o aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS), a ativação ou a translocação da proteína cinase C, da proteína tirosina cinase e proteína cinase p38 ativada por mitógeno, diminuem a entrada mitocondrial do cálcio (Figuras 4A e 4B) (Lorsomradee et al., 2008).

Os anestésicos voláteis halogenados aumentam a abertura dos canais de K_{ATP} pela ativação da fosfolipase C (PLC), por meio da adenosina A1 e A3 (A1/A3), pela estimulação do receptor adrenérgico e pela ativação da sintase do NO endotelial (eNOS) (Lorsomradee et al., 2008).

Os anestésicos voláteis halogenados também podem proteger o miocárdio mediando a liberação do NO (Novalija et al., 1999).

A utilização dos anestésicos voláteis halogenados durante a isquemia do miocárdio parece suprimir a ativação de neutrófilos, a interação neutrófilo-endotélio e as respostas inflamatórias que causam a disfunção miocárdica (Louvier & Lancon, 1994; Kowalski et al., 1997; Heindl et al., 1998, 1999a, 1999b; Hu et al., 2003).

Demonstrou-se que os anestésicos voláteis halogenados pré-condicionam diretamente (Kersten et al., 1996; Cason et al., 1997), ou aumentam o PCI, indiretamente, resultando em proteção cardíaca contra infarto do miocárdio, sendo que o canal K_{ATP} tem papel importante (Kersten et al., 1997). Assim, o pré-condicionamento farmacológico produzido por anestésicos voláteis halogenados, incluindo isoflurano, desflurano e sevoflurano, é muito similar ao PCI (Julier et al., 2003; Tanaka et al., 2004) e compartilha com o PCI muitos dos elementos transdutores de sinais.

O coração tem sido um dos órgãos mais estudados com relação à proteção pelos anestésicos voláteis halogenados. A gravidade da lesão isquêmica depende da duração da isquemia, mas ela pode ser modificada por intervenções antes que ocorra a isquemia (Kato & Foex, 2002; Sommerschild & Kirkeboen, 2002; Tanaka et al., 2004; De Hert et al., 2005).

A pesquisa de Zaugg et al. (2002a) demonstrou que os anestésicos voláteis halogenados mimetizam o pré-condicionamento cardíaco por iniciar a

ativação dos canais de potássio sensíveis à adenosina tri-fosfato (K_{ATP}) por meio de múltiplas vias de sinalização. Em outro estudo, estes autores agruparam os anestésicos de acordo com seu efeito de potencialização ou de inibição da atividade protetora sobre miócitos cardíacos isolados, de ratos adultos. Desse modo, aumentariam a proteção, o sevoflurano, o isoflurano, o fentanil, o tricloroetanol e o uretano. O efeito inibitório, diminuindo a proteção, seria exercido pelo tiopental sódico, pentobarbital sódico e *R*(-)cetamina. Não foi observado efeito na atividade do canal com o etomidato, o propofol, a *S*(+)cetamina, o midazolam e a xilazina (Zaugg et al., 2002b). Um estudo mais recente de Dogan et al. (2010) mostra maior proteção renal, ao fenômeno I/R, com o uso do tiopental e do propofol.

Julier et al. (2003) observaram que o pré-condicionamento do sevoflurano, em cirurgias de revascularização do miocárdio, foi associado a uma redução da liberação da cistatina C, que é um marcador da função renal.

De Hert et al. (2004) investigaram diferentes modalidades de administração do sevoflurano, antes (pré-condicionamento), durante e após a cirurgia de revascularização do miocárdio. Nesse estudo, somente a administração do sevoflurano, durante todo o procedimento, teve um efeito significativo na diminuição da liberação do marcador de lesão, a troponina I.

A administração de anestésicos voláteis halogenados no período pós-isquêmico também pode proporcionar a cardioproteção, como evidenciado pela melhoria da função endotelial, redução do tamanho do infarto e menor grau de apoptose (Feng et al., 2005, 2006). Este mecanismo de proteção aplicado após o evento isquêmico é denominado de pós-condicionamento e tem aplicações clínicas na anestesia, principalmente nas situações de emergência, quando o paciente já sofreu ou está em isquemia.

Em estudos experimentais, enquanto o tiopental em dose clínicas parece não bloquear o pré-condicionamento (Mullenheim et al., 2001a), outros estudos mostraram que a cetamina, mas não a *S*(+)cetamina, bloqueou completamente a cardioproteção do PCI *in vitro* e *in vivo*. (Mullenheim et al., 2001b; Molojavyy et al., 2001) Este efeito foi estéreo-específico para o isômero *R* (cetamina). Por

estes resultados é recomendável evitar-se o uso da cetamina racêmica em ocasiões que ocorram a I/R.

Kong et al. (2010) estudaram a função renal, em modelo de transplante hepático em ratos, comparando o sevoflurano com o hidrato de cloral, e concluíram que o sevoflurano pode modular cascatas inflamatórias e atenuar a lesão renal.

Com relação aos opióides, Zhang et al. (2005) observaram que, no pré-condicionamento pelo remifentanil, os receptores opióides cardíacos delta e kappa são os responsáveis pela mediação cardioprotetora, e não os receptores *mu*. Estariam envolvidos neste efeito, a proteína cinase C e o canal K⁺ mitocondrial. Vianna et al. (2009) em um experimento com um modelo animal semelhante ao desse estudo, ao examinar o efeito do isoflurano, do remifentanil e da associação de ambos, no PCI renal, não observaram proteção no grupo do isoflurano, mas quando o isoflurano foi associado ao remifentanil ocorreu um efeito benéfico, demonstrado pela avaliação dos valores da creatinina plasmática e do estudo da citometria de fluxo.

Desde 1985, McCord já havia determinado que os radicais livres derivados de oxigênio desempenham um importante papel em muitos modelos de I/R experimentalmente induzida, em laboratórios. Em vários modelos experimentais, os tecidos reperfundidos foram protegidos por varredores de radicais superóxidos. A disfunção induzida pelos radicais livres pode ser um componente importante nas doenças isquêmicas do coração, intestinos, fígado, rins e cérebro.

O propofol é um hipnótico lipofílico com atividade antioxidante comprovada “*in vitro*” e “*in vivo*”. Murphy et al. (1992) observaram o efeito antioxidante do propofol (2,6 diisopropilfenol) pela reação com radicais livres (para formar um radical fenoxil), uma propriedade comum das substâncias do tipo fenóis varredoras de radicais livres. Mesmo as baixas concentrações examinadas, de 10^{-6} a 10^{-5} mol.L⁻¹, foram capazes de varrer duas espécies de radicais livres. Os autores concluíram que as propriedades de varredura de radicais livres do propofol aproximam-se das do antioxidante endógeno alfa-

tocoferol, a vitamina E. As figuras 5 e 6 mostram as semelhanças químicas estruturais entre o propofol e a vitamina E.

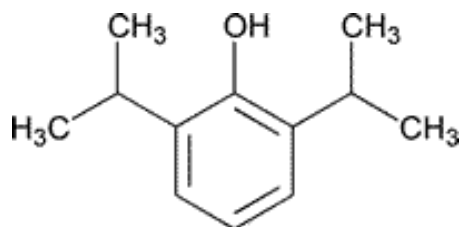


Figura 5 - Fórmula estrutural do 2,6 diisopropilfenol (propofol).

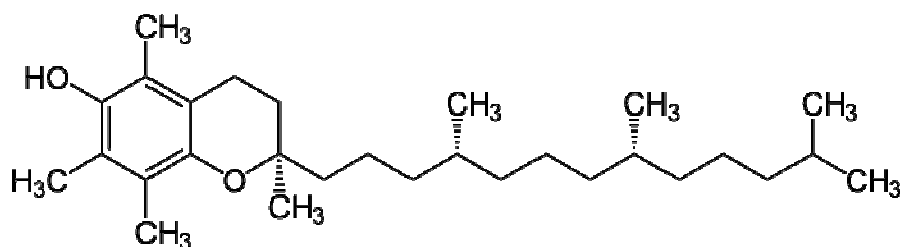


Figura 6 - Fórmula estrutural do alfa-tocoferol (vitamina E).

A varredura dos radicais livres de oxigênio reduz as ligações sulfídricas nas proteínas e inibe a peroxidação lipídica induzida pelo estresse oxidativo, durante o período de isquemia e reperfusão do órgão.

Estudo experimental, em suínos, comparando o propofol ($4 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) e o sevoflurano (concentração expirada final de 1,5%) encontrou a proteção renal com o propofol, em episódio de isquemia e reperfusão causado pelo clampeamento da aorta durante 30 minutos, acima da bifurcação das artérias renais. No pós-operatório, os valores da creatinina plasmática foram significativamente menores no grupo de animais anestesiados com o propofol quando comparado com o grupo do sevoflurano. Os animais anestesiados com o propofol apresentaram menor infiltração de neutrófilos, menores níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias, menor produção de radicais livres derivados de oxigênio, menor peroxidação lipídica e redução da atividade da

sintase do NO induzível (iNOS), quando comparados aos anestesiados com o sevoflurano (Rodriguez-Lopez et al., 2006).

Em estudo de Yamaguchi et al. (2000), realizado em ratos hiperglicêmicos, o propofol foi capaz de causar proteção ao tecido cerebral pela inibição da peroxidação lipídica, reduzir o acúmulo de lactato e o edema do tecido cerebral isquêmico.

Song & Jeong (2004) investigaram o papel do propofol na imunidade, durante a *sepsis*, estudando a citotoxicidade e a apoptose em células mononucleares. Não ocorreram alterações na citotoxicidade e apoptose em concentrações clinicamente aceitáveis de 1 mcg.mL⁻¹, 5 mcg.mL⁻¹ e 10 mcg.mL⁻¹. Diferenças significativas na citotoxicidade ($p < 0,04$) e na apoptose ($p < 0,02$) foram encontradas com doses de propofol de 50 mcg.mL⁻¹. Os autores concluíram que em termos de citotoxicidade e apoptose, em condições de *sepsis*, o propofol permitiu às células mononucleares reterem a citotoxicidade protegendo-as da apoptose.

Liu et al. (2007), estudando em um modelo de isquemia e reperfusão intestinal, observaram que o propofol reduziu a intensidade da lesão da mucosa do intestino. Os autores atribuíram a ocorrência ao efeito antioxidante do propofol, a inibição do aumento da produção do NO e dos níveis de endotelina-1.

O efeito antioxidante do propofol, avaliado pela inibição da produção de peroxidase lipídica, também foi comprovado em um experimento realizado com plaquetas de pacientes submetidos à cirurgia (De La Cruz et al., 1999).

Sayin et al. (2002) em estudo comparativo, com 24 pacientes submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio com circulação extracorpórea, entre o uso do fentanil ou do propofol, para a manutenção da anestesia, mostrou que os pacientes anestesiados com o fentanil tiveram os níveis de peroxidação lipídica significativamente maiores ($p < 0,05$) do que os pacientes anestesiados com o propofol, que não apresentaram aumento ($p > 0,05$). Os autores concluíram que, em doses clínicas de 3 a 6 mg.kg⁻¹.h⁻¹, o propofol atenua significativamente a peroxidação lipídica.

Karashima et al. (2002), em um estudo com células endoteliais de aorta bovina, submetidas a hiperglicemia, observaram que concentrações anestésicas de propofol preveniram o comprometimento da produção de NO dependente do cálcio. Atribuíram o efeito, principalmente, a redução do acúmulo de superóxido (O_2^-) e, pelo menos em parte, a inibição da captação celular da glicose.

Tsuchiya et al. (2002) demonstraram, em pacientes submetidos a gastrectomia, que o propofol protege os eritrócitos do estresse oxidativo e também do estresse físico, aumentando a fluidez da membrana. Após a cirurgia, a hemólise foi menor no grupo do propofol quando se comparou este a um grupo de pacientes anestesiados com sevoflurano. Os autores consideraram o propofol como um fármaco de alto potencial e eficiência antioxidante.

Em cirurgia cardíaca, o propofol na dose de $120 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, iniciada 10 minutos antes da circulação extracorpórea, reduziu as concentrações de troponina I e elevou os índices cardíacos, no pós-operatório, quando comparado com isoflurano ou com doses menores de propofol de $60 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (Xia et al., 2006).

Estudos mostram que, após a isquemia o propofol diminui a insuficiência miocárdica, o tamanho do infarto e a degeneração histológica (Ko et al., 1997; Kokita et al., 1998; Mathur et al., 1999; Yoo et al., 1999; Javadov et al., 2000). Este fármaco atenua o influxo do cálcio na célula (Yoo et al., 1999; Nakae et al., 2000) e suprime a atividade dos neutrófilos (Skoutelis et al., 1994; Buljubasic et al., 1996). Tais informações sugerem que o propofol pode atuar na fase crítica da lesão de reperfusão, reduzindo os radicais livres, o influxo do cálcio celular e a atividade dos neutrófilos, sem agir como agente pré-condicionante (Kato & Foex, 2002). Estudo de Kokita et al. (1998) demonstrou a proteção quando o coração foi tratado com o propofol somente na fase de reperfusão. A adição da glibenclamida, que é bloqueador do canal de K_{ATP} , não aboliu o efeito protetor do propofol (Mathur et al., 1999).

Dogan et al. (2010) compararam a injeção de tiopental, propofol, solução de intralipid, etomidado e cetamina, 15 minutos antes do período de isquemia, em um modelo experimental de I/R renal, em ratos, com tempos de isquemia de 60 minutos e reperfusão de 60 minutos. Com a avaliação dos valores sorológicos do malondialdeído (MDA), da atividade da catalase (CAT) e da superóxido dismutase (SOD) concluíram que o propofol e, especialmente, o tiopental são eficientes na proteção contra a lesão de I/R no rim.

Yuzbasioglu et al. (2010), em um modelo experimental de I/R em ratos, com tempos de isquemia de 60 minutos e reperfusão de 60 minutos, estudaram os efeitos protetores da injeção intraperitoneal de uma solução de intralipid a 10% (250 mg.kg⁻¹) ou propofol (25 mg.kg⁻¹), com a avaliação histológica e dos valores sorológicos do malondialdeído (MDA), da atividade da catalase (CAT) e da superóxido dismutase (SOD). A avaliação histológica do grupo de controle, submetido apenas ao episódio de I/R, mostrou um comprometimento renal com edema das células tubulares, edema intersticial, congestão medular e dilatação tubular. Os níveis de MDA e os escores de avaliação histológica foram menores no grupo que recebeu o propofol do que nos grupos controle e intralipid. Os autores atribuíram ao efeito antioxidante do propofol a proteção funcional, bioquímica e morfológica contra a lesão da I/R.

1.3 A HIPERGLICEMIA

Alguns fatores de risco conhecidos da doença cardiovascular (tais como: hipercolesterolemia, hipertensão e diabetes) parecem aumentar muitas das alterações da isquemia-reperfusão. Os mediadores inflamatórios liberados pela reperfusão parecem ativar células endoteliais à distância, em órgãos remotos que não foram submetidos à lesão isquêmica inicial. Esta resposta à distância leva a lesão microvascular leucócito-dependente que é característica da síndrome de falência de múltiplos órgãos e sistemas (Carden & Granger, 2000).

A diabetes mellitus bloqueia a proteção do pré-condicionamento isquêmico precoce em cães (Kersten et al., 2000) e o tardio em coelhos (Ebel et al., 2003). Existe evidência clínica de bloqueio relevante do pré-condicionamento isquêmico em pacientes diabéticos (Ishihara et al., 2001).

A hiperglicemia aguda apresenta muitos efeitos deletérios tais como: a diminuição da vasodilatação, o comprometimento da geração de NO endotelial reativo, a diminuição de complementos, o aumento da expressão leucocitária e a adesão endotelial de moléculas, o aumento dos níveis de citocinas, o comprometimento da quimiotaxia e fagocitose; levando ao aumento da inflamação, a vulnerabilidade à infecção e a falência múltipla de órgãos (Turina et al., 2005).

Quando comparada com um grupo de controle, a diabetes experimentalmente induzida está associada a um aumento significativo no recrutamento de leucócitos aderentes e migrantes, maior extravasamento de albumina e a formação acelerada de oxidantes nas vênulas expostas à isquemia-reperfusão. Os pacientes hiperglicêmicos têm níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias que podem levar a lesão tecidual. A mais proeminente entre estas citocinas é o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) que pode causar lesão pulmonar ou renal (Yu et al., 2003). Esposito et al. (2002) demonstraram um aumento dos níveis plasmáticos de TNF-alfa, interleucina-1 beta e interleucina-8, durante a hiperglicemia aguda e a redução nestas citocinas inflamatórias após a administração de insulina.

Em 2001, Van den Berghe et al. publicaram um estudo randomizado, com 1500 pacientes em unidades de terapia intensiva cirúrgica, submetidos à terapia intensiva de insulina para manter os níveis de glicemia entre 80-110 mg.dL⁻¹, em que observaram a diminuição da morbidade, quando comparados com os pacientes submetidos ao tratamento padrão (níveis de glicemia entre 180-200 mg.dL⁻¹).

Furnary et al. (2003) preconizaram a infusão contínua de insulina, para a manutenção de níveis glicêmicos normais, em pacientes submetidos a

cirurgia de revascularização do miocárdio para diminuir a mortalidade hospitalar associada a diabetes.

Outros estudos mostram que o controle da glicemia, em cirurgia cardíaca, diminuiu a frequência de infecções com a melhora da sobrevivência dos pacientes (Furnary et al., 2003; Ouattara et al., 2005; Gandhi et al., 2005; Doenst et al., 2005).

Van den Berghe et al. (2001) e Vanhorebeek et al. (2005) também propõem o controle estrito da glicemia para os pacientes críticos, que possuem o risco de episódios de I/R.

Vários estudos demonstraram que a insulinoterapia intensiva, para a manutenção de níveis adequados da glicemia, melhorou os resultados dos pacientes com lesões neurológicas e infarto agudo do miocárdio (Malmberg et al., 1996; Bilotta et al., 2007; Azevedo et al., 2007).

Em um estudo internacional, realizado pelo grupo NICE-SUGAR, com 6104 pacientes randomizados, em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), foi encontrado um aumento da mortalidade, em pacientes submetidos ao controle estrito (81-108 mg.dL⁻¹), quando comparados aos pacientes com níveis de glicemia abaixo de 180 mg.dL⁻¹. Os autores não sabem precisar se a redução dos níveis de glicose, o aumento da dose de insulina, a ocorrência de hipoglicemia ou fatores da metodologia do estudo influenciaram nos resultados, porém não recomendam o uso do controle estrito da glicemia (81-108 mg.dL⁻¹) para pacientes de UTI (Finfer et al., 2009).

O papel da hiperglicemia em induzir disfunção renal ainda não é bem entendido. Estudos realizados em animais hiperglicêmicos com deficiência insulínica, por destruição celular, mostraram uma evolução mais grave da isquemia renal, quando comparados aos animais com normoglicemia (Di Filippo et al., 2005; Hartner et al., 2005; Chow et al., 2006).

O aumento da lesão renal parece estar relacionado ao exagerado estresse oxidativo e ao aumento das respostas inflamatórias nos rins, dos animais hiperglicêmicos. Todavia, ainda não é muito claro como a hiperglicemia

em animais não diabéticos pode ser lesiva para a função renal (Hirose et al., 2008).

A abertura dos canais de potássio sensível à adenosina tri-fosfato resulta na liberação de radicais livres que ativam várias cinases incluindo as proteínas cinases ativadas por mitógeno (MAPK) (Pain et al., 2000). Essas cinases têm demonstrado o envolvimento no PCI (Ping & Murphy, 2000; Yellon & Downey, 2003).

Em um estudo sobre o controle glicêmico, nas primeiras 100 horas após o transplante renal, com rim de cadáver, Thomas et al. (2001) observaram que nos pacientes com controle da glicemia (média da glicemia $< 11,2 \text{ mmol.L}^{-1}$) a rejeição ocorreu em apenas 11% dos pacientes ($n=3$), enquanto nos pacientes com valores de glicemia maiores de $11,2 \text{ mmol.L}^{-1}$, a rejeição foi de 58%. Todos os pacientes sem controle glicêmico adequado tiveram infecção. Os autores concluem que a hiperglicemia pode estar associada ao aumento do risco de rejeição e infecção pós-operatória em pacientes submetidos a transplante renal.

Ganji et al. (2007) verificaram uma maior incidência de episódios de rejeição aguda pós-transplante renal, em pacientes com níveis glicêmicos mais elevados ($249,67 \pm 61,78 \text{ mg.dL}^{-1}$), quando comparados com pacientes portadores de menores níveis de glicemia ($184,82 \pm 73,35 \text{ mg.dL}^{-1}$), sugerindo que a monitoração e o controle dos níveis glicêmicos no peri e pós-operatório pode reduzir a rejeição aguda.

A hiperglicemia aguda induzida em ratos, submetidos por 45 minutos a isquemia hepática parcial (70%), seguida de reperfusão, piorou a função hepática, aumentou o estresse oxidativo hepático, aumentou a resposta inflamatória e suprimiu a ativação de proteínas de choque térmico (*Heat Shock Protein* - HSP) (Behrends et al., 2010).

Tanaka et al. (2002) para testarem a hipótese de que a diabetes mellitus interfere com o pré-condicionamento induzido pelo isoflurano, estudaram o efeito de um episódio de I/R no coração de cães, concluíram que o tamanho do infarto foi diretamente relacionado com as concentrações de glicose, mas esta

relação foi abolida com altas concentrações de isoflurano. Kehl et al. (2002) em estudo semelhante, porém com hiperglicemia aguda induzida pela injeção de solução de glicose a 15%, demonstraram o bloqueio do pré-condicionamento, induzido pelo isoflurano, pela hiperglicemia aguda.

A hiperglicemia induzida em cães, pela infusão de glicose, bloqueou o pré-condicionamento induzido pelo isoflurano, provavelmente devido à formação de quantidades excessivas de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Kehl et al., 2002, 2003).

O aumento da mortalidade por doença cardíaca isquêmica, observado em pacientes diabéticos com o uso de alguns hipoglicemiantes orais, levou a uma revisão no tratamento de pacientes diabéticos com angina, desde que as sulfoniluréias, os hipoglicemiantes orais mais utilizados, bloqueiam os canais K_{ATP} e os possíveis efeitos cardioprotetores do pré-condicionamento isquêmico. Os antidiabéticos orais, como a glibenclamida, podem bloquear os canais K_{ATP} e prevenir a proteção conferida pelo pré-condicionamento. Evidências recentes sugerem que os pacientes portadores de diabetes tipo II e de doença coronariana podem ser beneficiados pela substituição da glibenclamida pela insulina, com menor grau de disfunção miocárdica induzida pela isquemia (Scognamiglio et al., 2002).

Usando um coração de rato isolado e perfundido, Yellon & Downey (2003) mostraram que a glibenclamida bloqueia o efeito protetor do pré condicionamento, diretamente atribuído aos canais mito K_{ATP} enquanto a glimeperida, com menor cárdio-especificidade, não bloqueou este efeito. Estes estudos têm implicações importantes no tratamento de pacientes diabéticos tipo II com doença cardíaca isquêmica ou que serão submetidos à isquemia miocárdica.

2 OBJETIVO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar os efeitos da hiperglicemia transitória na isquemia-reperfusão (I/R) renal, em ratos submetidos à anestesia com propofol ou com o isoflurano.

3 MATERIAL E MÉTODO

Após a aprovação pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina de Botucatu, foram incluídos no estudo 36 ratos Wistar, machos, com peso maior que 250 g, distribuídos aleatoriamente em seis grupos de seis animais, fornecidos pelo Biotério Central do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (UNESP).

3.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS

A anestesia dos animais foi induzida com isoflurano e mantida com isoflurano ou propofol, com ou sem a presença de hiperglicemia, de acordo com o grupo correspondente, descritos abaixo e denominados na tabela 1.

Grupo PHS (Propofol - Hiperglicemia - *Sham*, n=6) - animais induzidos com a concentração inspirada de 3% de isoflurano e mantidos com propofol ($1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Indução da hiperglicemia. Após 30 minutos, foram realizadas a laparotomia e a nefrectomia direita. Suspensão dos fármacos e despertar do animal. Após 24 horas, nefrectomia esquerda para exame.

Grupo IHS (Isoflurano - Hiperglicemia - *Sham*, n=6) - animais induzidos com a concentração inspirada de 3% de isoflurano e mantidos com a concentração de 1,5 a 2 % isoflurano, durante o experimento. Indução da hiperglicemia. Após 30 minutos, foram realizadas a laparotomia e a nefrectomia direita. Suspensão dos fármacos e despertar do animal. Após 24 horas, nefrectomia esquerda para exame.

Grupo PHI (Propofol - Hiperglicemia - Isquemia, n=6) - animais induzidos com a concentração inspirada de 3% de isoflurano e mantidos com propofol ($1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$), durante o experimento. Indução da hiperglicemia. Após 30 minutos, foram realizadas a laparotomia e a nefrectomia direita seguida de isquemia renal esquerda, por 25 minutos. Reperfusão do rim esquerdo. Suspensão dos fármacos e despertar do animal. Após 24 horas, nefrectomia esquerda para exame.

Grupo IHI (Isoflurano - Hiperglicemia - Isquemia, n=6) - animais induzidos com a concentração inspirada de 3 % de isoflurano e mantidos com a concentração de 1,5 a 2% de isoflurano, durante o experimento. Indução da hiperglicemia. Após 30 minutos, foram realizadas a laparotomia e a nefrectomia direita seguida de isquemia renal esquerda, por 25 minutos. Reperfusão do rim esquerdo. Suspensão dos fármacos e despertar do animal. Após 24 horas, nefrectomia esquerda para exame.

Grupo PI (Propofol - Isquemia, n=6) - animais induzidos com a concentração inspirada de 3% de isoflurano e mantidos com propofol ($1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$), durante o experimento. Após 30 minutos, foram realizadas a laparotomia e a nefrectomia direita seguida de isquemia renal esquerda, por 25 minutos. Reperfusão do rim esquerdo. Suspensão dos fármacos e despertar do animal. Após 24 horas, nefrectomia esquerda para exame.

Grupo II (Isoflurano - Isquemia, n=6) - animais induzidos com a concentração inspirada de 3% de isoflurano e mantidos com a concentração de 1,5 a 2%, durante o experimento. Após 30 minutos, foram realizadas a laparotomia e a nefrectomia direita seguida de isquemia renal esquerda, por 25 minutos. Reperfusão do rim esquerdo. Suspensão dos fármacos e despertar do animal. Após 24 horas, nefrectomia esquerda para exame.

Tabela 1 - Descrição dos grupos quanto à presença de hiperglicemia, isquemia renal esquerda, fármaco para a manutenção da anestesia e número de animais

Grupo	Hiperglicemia	Isquemia	Propofol	Isoflurano	Nefrectomia Direita	n=
PHS	+	-	+	-	+	6
IHS	+	-	-	+	+	6
PHI	+	+	+	-	+	6
IHI	+	+	-	+	+	6
PI	-	+	+	-	+	6
II	-	+	-	+	+	6

(+ indica a presença, - indica a ausência)

3.2 SEQUÊNCIA EXPERIMENTAL

Na véspera do experimento os animais eram acondicionados em gaiolas com dieta liberada para ingerir água e alimentos. No início do experimento os animais foram pesados.

Os animais foram anestesiados em uma campânula, com vapor de isoflurano a 3%, em 50% de oxigênio, durante cinco minutos e transferidos para uma superfície inclinada em 40 graus, onde foi realizada a intubação traqueal. Foram transferidos para a mesa operatória e conectados ao ventilador (683 Rodent Ventilator[®], Harvard Apparatus Inc. - EUA) com frequência ventilatória de 60 a 70 incursões por minuto (ipm) e volume corrente de aproximadamente 10 mL.kg⁻¹ de peso do animal. O ajuste da ventilação foi auxiliado pela capnometria e capnografia. Alterações na forma do capnograma, que indicassem obstrução do tubo traqueal, eram prontamente corrigidas com manobras de aspiração e limpeza, até a obtenção de uma ventilação adequada.

Foi instalado um sensor para a medida da temperatura retal. Os animais foram mantidos sobre e cobertos com bolsas térmicas pré-aquecidas para a manutenção da temperatura entre 36°C a 38°C.

Por uma incisão cervical mediana, foram realizadas, sob visão direta, as punções: 1) da veia jugular direita (cateter 24 GA) – para a infusão de líquidos e fármacos, por bomba de infusão (*ANNE®* – *Abbott Laboratories*, EUA) e 2) da artéria carótida esquerda (cateter 24 GA) – para a monitoração cardiovascular e extração de amostras sanguíneas.

Foi monitorada a pressão arterial média (direta), a frequência ventilatória, a concentração do gás carbônico no final da expiração, a concentração do isoflurano expirada e a temperatura retal, por sensores conectados ao monitor Datex-Ohmeda modelo AS3 (Engstron - Finlândia). Os valores das variáveis monitoradas, para o controle e o ajuste da anestesia, foram anotados nos tempos de 0, 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos.

No momento M1, logo após a cateterização arterial e venosa, foi extraído 1 mL de sangue arterial para dosagens de glicose e creatinina plasmáticas, seguida de reposição de 2 mL de Ringer com lactato por via venosa. Após, foi feita injeção intraperitoneal, equivalente ao volume de $0,01 \text{ mL.g}^{-1}$ de peso, de solução de Ringer lactato (grupos sem hiperglicemia – PI e II) ou de glicose a 25% (equivalente a $2,5 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso, para a indução da hiperglicemia, nos grupos PHS, IHS, PHI e IHI), correspondente ao grupo do animal.

Foi feita laparotomia mediana para realização dos procedimentos sobre os rins, seguida da nefrectomia direita, para prevenir uma possível compensação, pelo rim direito, da isquemia renal esquerda. Este procedimento fez parte do modelo de isquemia renal estudado e foram feitos em todos os animais pesquisados.

Após a injeção intraperitoneal foi aguardado um período de estabilização de 30 minutos para o clampeamento da artéria renal esquerda.

Nos grupos IHS, IHI e II foi mantida a inalação de isoflurano na concentração de 1,5 a 2%. Nos grupos PHS, PHI e PI a administração de isoflurano foi suspensa, logo após a intubação e as punções venosa e arterial, e a manutenção foi realizada com a administração de propofol na dose de $1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, pela bomba de infusão (*ANNE®* *Abbott Laboratories*, EUA) por via endovenosa.

Em pesquisas anteriores deste laboratório, aproximadamente 200 rins obtidos de nefrectomia à direita foram submetidos aos exames histológicos e de citometria de fluxo e mostraram valores normais para este órgão.

Foi realizado o clampeamento da artéria renal esquerda por um período de 25 minutos (período de isquemia) e, após este, o *clamp* vascular atraumático foi liberado. Observou-se a mudança da coloração do rim antes, durante e após o clampeamento.

No final do experimento foi determinado o momento M2, em que foram extraídas novas amostras de sangue arterial (1 mL de sangue e reposição de 2 mL de Ringer lactato por via endovenosa) para as dosagens de glicose e creatinina plasmáticas. Em seguida, ocorreram os fechamentos da laparotomia e da incisão cervical (após a retirada dos cateteres), em um único plano, após infiltração da parede com uma solução de anestésico local (0,4 mL de bupivacaína a 0,2%), para analgesia pós-operatória.

Após o encerramento da administração do agente anestésico ocorreu o despertar do animal sendo realizada a desintubação e transferência do animal para a gaiola, com a liberação de água e de alimentação.

Vinte e quatro horas após a reperusão, no momento M3, os animais retornaram ao laboratório, onde sob anestesia com isoflurano foi realizada a reabertura da sutura abdominal e a nefrectomia esquerda, para exame histológico e citometria de fluxo, e coleta de sangue, por punção intracardíaca, para as dosagens de glicose e creatinina plasmáticas.

A seguir os animais foram sacrificados com injeção de sobredose de pentobarbital sódico e cloreto de potássio, por via intracardíaca.

3.3 ATRIBUTOS ESTUDADOS

Os atributos estudados em cada um dos animais, dos seis grupos de estudo, foram os seguintes:

- Pressão arterial média
- Creatinina plasmática

- Glicemia plasmática
- Avaliação histológica renal
- Avaliação da viabilidade celular

3.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

O rim esquerdo do animal foi retirado e uma metade deste colocado em solução de Duboscq-Brasil, durante 24 horas, sendo, a seguir, armazenado em álcool a 70% para posterior avaliação histológica. A solução de Duboscq-Brasil foi utilizada para preservar, fixar as estruturas renais e aumentar a fidedignidade da análise histológica. O corante utilizado para a análise histológica foi a hematoxilinaeosina e os cortes foram verificados sob diversos aumentos na microscopia óptica. Após o preparo das lâminas dos rins, com fixação em parafina, essas foram avaliadas quanto à porcentagem de necrose tubular e classificadas com o uso de um escore descrito por Park et al., 2008 (Tabela 2).

Tabela 2 - Escores dos graus de lesão celular atribuídos aos exames histológicos

GRAU	TIPO	% DE LESÃO
0	Sem Lesão	
1	Leve	< 10% necrose
2	Moderado	10 a 25%
3	Moderado a Grave	25 a 50%
4	Grave	50 a 75%
5	Muito grave	> 75%

Adaptada de Park et al. 2008

O patologista que realizou a avaliação histológica não teve conhecimento a qual grupo pertenceu o rim.

3.5 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR (APOPTOSE)

A outra metade do rim esquerdo foi colocada em cultura apropriada para a avaliação da viabilidade celular pelo método da citometria de fluxo. Com as

células extraídas destes rins foi utilizado um “kit” para detecção de apoptose constituído de anexina V-FITC e iodeto de propídeo (Pharmingen®) permitindo determinar quantitativamente o percentual de viabilidade (células vivas, mortas e em processo apoptótico inicial) na população celular, definida pelos parâmetros de tamanho e granulosidade celular. As análises foram realizadas no citômetro de fluxo modelo FACSCalibur® (*Becton, Dickinson and Company*, EUA), constituído de três detectores de fluorescências com uso dos programas CellQuest® e Paint-a-gate® (*Becton, Dickinson and Company*, EUA).

3.6 MOMENTOS ESTUDADOS

A monitoração da pressão arterial média, da concentração dos gases inspirados e expirados (isoflurano e $E_T\text{CO}_2$) e da temperatura retal permitiu o controle da anestesia e a manutenção do equilíbrio. Essas medidas foram realizadas a partir do momento inicial, da cateterização da artéria carótida direita, e a cada 15 minutos, durante todo o experimento até o despertar do animal, no primeiro dia do experimento.

Os valores analisados, das medidas da pressão arterial média, foram obtidos logo após a cateterização da artéria carótida direita (T1), 30 minutos após a injeção intraperitoneal de glicose ou Ringer lactato (T2) e antes da retirada do cateter da artéria carótida direita (T3), ao término do experimento.

A creatinina e a glicemia plasmáticas foram estudadas nos momentos M1 (início do experimento), M2 (final do experimento) e M3 (24 horas após M2).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a variável peso foi utilizada a análise de variância no delineamento inteiramente ao acaso.

Para as variáveis PAM, glicemia e creatinina, cujo interesse foi estudar efeito de grupo, momento e interação momento x grupo, foi utilizada a análise de perfil.

Para as variáveis de histologia e da citometria de fluxo foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

Os dados foram expressos como médias $\pm$ (SD) ou medianas e quartis. As diferenças foram consideradas significantes quando $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM)

Os valores da PAM (mmHg) não apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos (PHS – propofol +hiperglicemia –*sham*, IHS – isoflurano + hiperglicemia – *sham*, PHI - propofol + hiperglicemia + isquemia, IHI - isoflurano + hiperglicemia + isquemia, PI – propofol + isquemia, II – isoflurano + isquemia) e entre os momentos T1 (início do experimento), T2 (30 minutos após a injeção intraperitoneal de glicose ou Ringer lactato) e T3 (término do experimento) de cada grupo (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores da média e desvio-padrão referentes à PAM (mmHg) segundo momentos e grupos

Grupo	Tempo		
	T1	T2	T3
PHS	105,5±17,2	110,2±20,0	87,5±29,4
IHS	90,5±27,2	95,7±15,8	93,5±23,5
PHI	93,2±21,3	110,2±12,4	94,8±17,5
IHI	94,7±20,0	89,7±17,4	90,2±17,9
PI	119,0±16,7	85,8±25,4	96,7±27,1
II	109,5±13,3	90,5±21,1	85,3±19,8

Não houve efeito do momento, grupo e nem da interação momento x grupo
± = desvio padrão

4.2 GLICEMIA

Os valores da glicemia plasmática (mg.dL^{-1}) foram obtidos em M1 (início do experimento), M2 (final do experimento) e M3 (vinte e quatro horas após M2). Em M2 os valores foram maiores nos grupos PHS – propofol + hiperglicemia - *sham* ($351,8 \pm 141,0$) e IHI - isoflurano + hiperglicemia + isquemia ($348,3 \pm 52,3$), nos grupos IHS – isoflurano + hiperglicemia – *sham* ($302,5 \pm 80,0$) e PHI - propofol + hiperglicemia + isquemia ($308,5 \pm 74,5$) apresentaram valores intermediários e nos grupos PI - propofol + isquemia ($147,0 \pm 62,4$) e II - isoflurano + isquemia ($162,7 \pm 40,2$), que não receberam injeção intraperitoneal de glicose, apresentaram os menores valores (Tabela 4 e Figura 7).

Tabela 4 - Valores da média e desvio-padrão referentes à glicemia (mg.dL^{-1}) segundo momentos e grupos

Grupo	M1	Momento M2	M3
PHS	180,7 $\pm$ 49,0a A	351,8 $\pm$ 141,0a A	275,7 $\pm$ 249,6a A
IHS	212,3 $\pm$ 48,4a A	302,5 $\pm$ 80,0a A	181,8 $\pm$ 12,7a A
PHI	167,0 $\pm$ 28,0a A	308,5 $\pm$ 74,5a A	149,8 $\pm$ 39,8a A
IHI	241,2 $\pm$ 36,0ab A	348,3 $\pm$ 52,3a A	135,5 $\pm$ 47,6b A
PI	171,5 $\pm$ 103,1a A	147,0 $\pm$ 62,4a B	199,2 $\pm$ 15,8a A
II	182,7 $\pm$ 36,6a A	162,7 $\pm$ 40,2a A	189,0 $\pm$ 11,9a A

$p < 0,05$

Letras minúsculas comparam médias de momentos em cada grupo.

Letras maiúsculas comparam médias de grupos em cada momento.

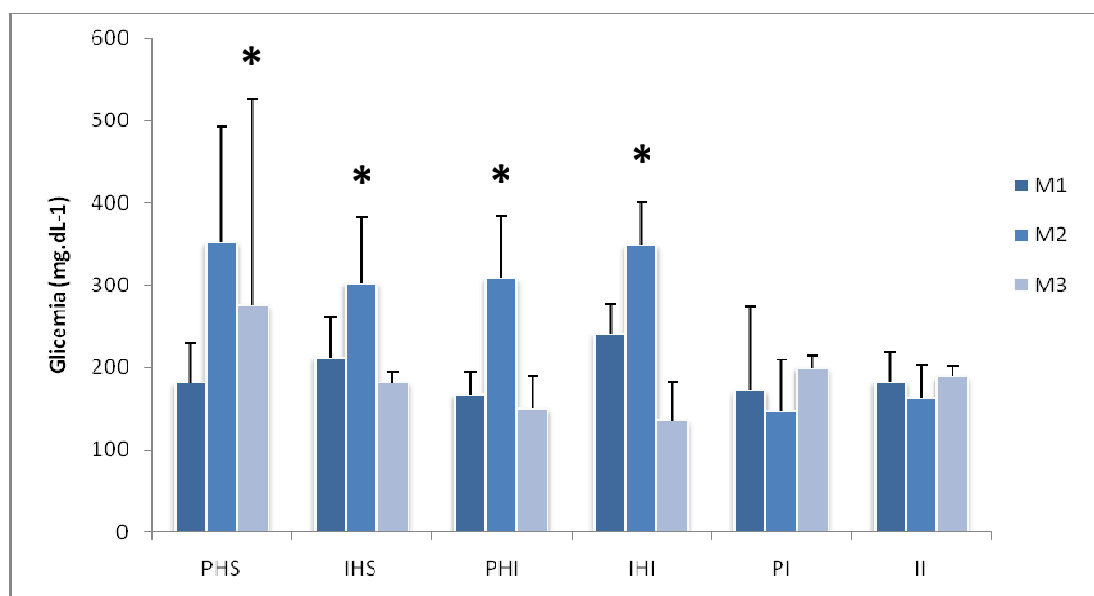


Figura 7 – Valores da glicemia (mg.dL^{-1}) nos três momentos nos seis grupos estudados.

* $p < 0,05$

4.3 CREATININA

Os valores da creatinina plasmática (mg.dL^{-1}) obtidos foram similares entre os grupos em M1 (início do experimento) e M2 (final do experimento), mas, estatisticamente diferentes em M3 (24 horas após M2) nos grupos PHI -propofol + hiperglicemia + isquemia ($3,60 \pm 0,80$) e IHI – isoflurano + hiperglicemia + isquemia ($3,23 \pm 2,16$) em relação aos demais grupos: PHS - propofol + hiperglicemia -*sham* ($0,95 \pm 0,27$), IHS - isoflurano + hiperglicemia - *sham* ($0,62 \pm 0,12$), PI - propofol + isquemia ($0,88 \pm 0,38$) e II - isoflurano + isquemia ($1,42 \pm 1,00$) (Tabela 5 e Figura 8).

Tabela 5 - Valores da média e desvio-padrão referentes à creatinina (mg.dL^{-1}) segundo momentos e grupos

Grupo	M1	Momento M2	M3
PHS	$0,42 \pm 0,08$ A	$0,68 \pm 0,04$ A	$0,95 \pm 0,27$ A B
IHS	$0,30 \pm 0,09$ A	$0,30 \pm 0,06$ A	$0,62 \pm 0,12$ A B
PHI	$0,38 \pm 0,08$ A	$0,68 \pm 0,04$ A	$3,60 \pm 0,80$ A A
IHI	$0,40 \pm 0,00$ A	$0,68 \pm 0,12$ A	$3,23 \pm 2,16$ A A
PI	$0,40 \pm 0,00$ A	$0,58 \pm 0,08$ A	$0,88 \pm 0,38$ A B
II	$0,40 \pm 0,06$ A	$0,57 \pm 0,05$ A	$1,42 \pm 1,00$ A B

$p < 0,05$

Letras minúsculas comparam médias de momentos em cada grupo

Letras maiúsculas comparam médias de grupos em cada momento

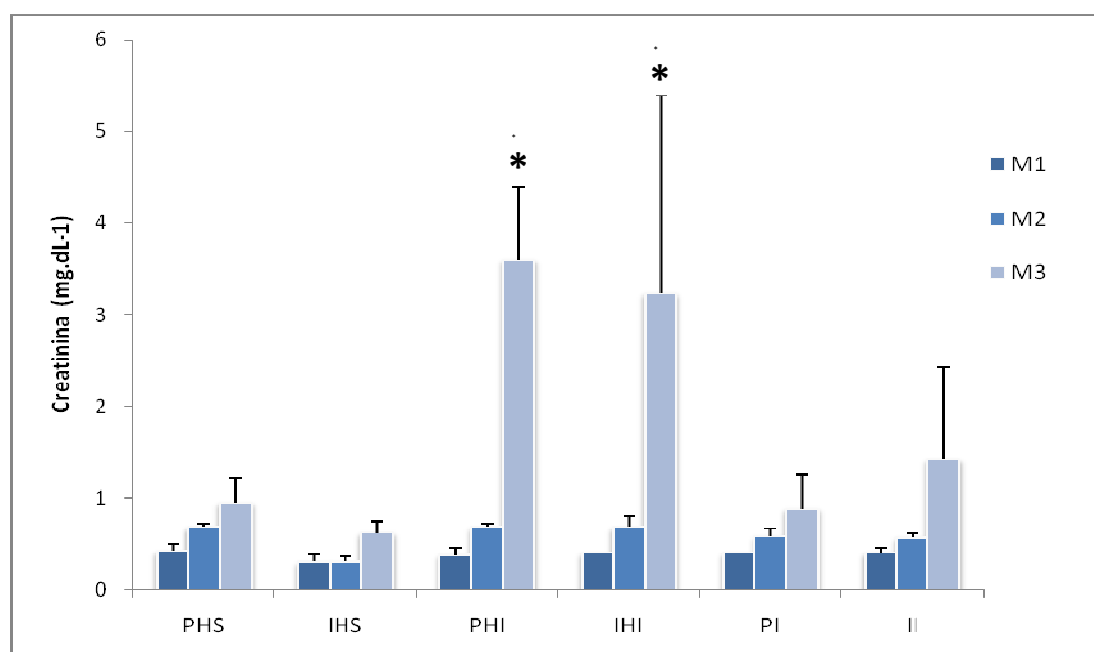


Figura 8 – Valores da creatinina (mg.dL^{-1}) nos três momentos nos seis grupos estudados.

* $p < 0,05$

4.4 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Os valores dos escores dos exames histológicos (segundo a Tabela 2) mostraram que os grupos PHS – propofol + hiperglicemia – *sham* (0,0[0,0;1,0]) e IHS – isoflurano + hiperglicemia – *sham* (0[0,0;0,0]) diferiram estatisticamente dos grupos PHI - propofol + hiperglicemia + isquemia (4,0[4,0;5,0]) e IHI - isoflurano + hiperglicemia + isquemia (4,5[4,0;5,0]). Os grupos PI - propofol + isquemia (3,0[1,0;3,0]) e II – isoflurano + isquemia (2,0[1,0;3,0]) apresentaram escores intermediários (Tabela 6 e Figura 9).

Os grupos PHI e IHI diferiram estatisticamente dos grupos PHS e IHS, e os grupos PI e II tiveram escores intermediários, não diferindo de PHS e IHS e também de PHI e IHI.

Tabela 6 - Mediana, 1^o e 3^o quartil, entre colchetes, referentes aos escores da intensidade da lesão segundo os grupos

Grupo	Escore de Lesão
PHS	0,0[0,0;1,0] B
IHS	0,0[0,0;0,0] B
PHI	4,0[4,0;5,0] A
IHI	4,5[4,0;5,0] A
PI	3,0[1,0;3,0] AB
II	2,0[1,0;3,0] AB

$p < 0,05$

Grupos seguidos de pelo menos uma letra em comum não diferem estatisticamente

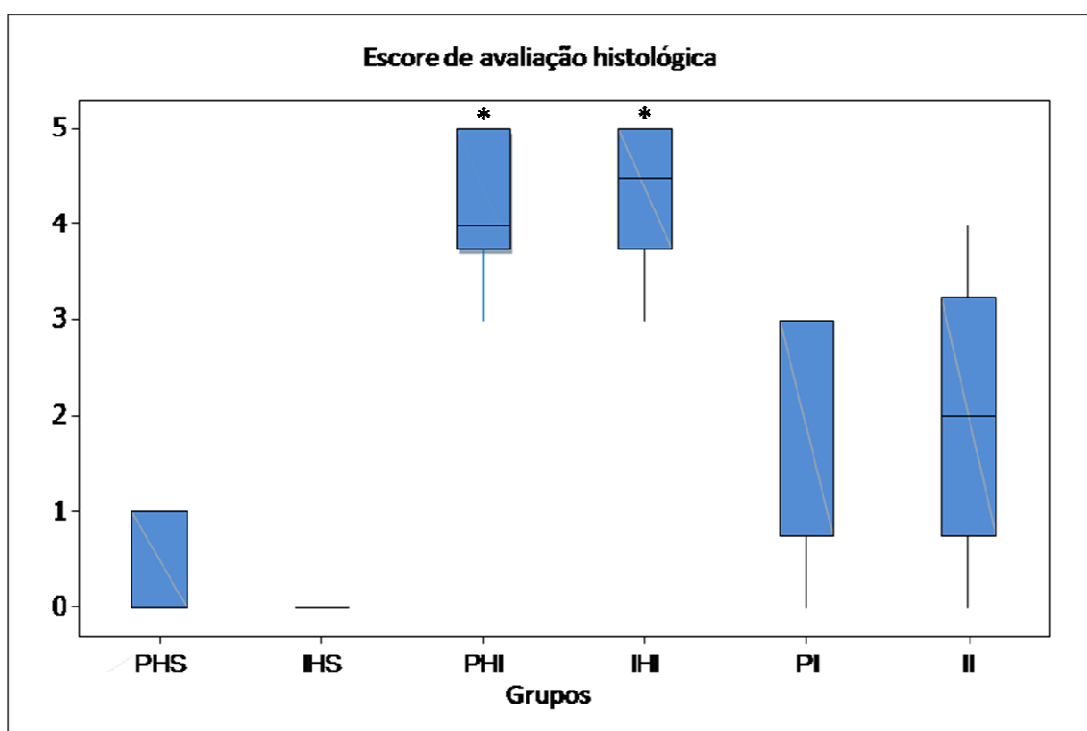


Figura 9 - Escore da avaliação histológica da lesão celular nos seis grupos estudados.

* $p < 0,05$

4.5 CITOMETRIA DE FLUXO (CF)

4.5.1 Apoptose inicial (APTi) – Anexina V

A CF mostrou diferença estatisticamente significativa do percentual da APTi entre os grupos PHS – propofol + hiperglicemia – *sham* ($9,9 \pm 6,6$), IHS – isoflurano + hiperglicemia – *sham* ($4,2 \pm 2,0$), PI – propofol + isquemia ($15,7 \pm 22$) e II – isoflurano + isquemia ($15,8 \pm 17,2$) e os grupos PHI propofol + hiperglicemia + isquemia ($73,2 \pm 14,2$) e IHI – isoflurano + hiperglicemia + isquemia ($48,1 \pm 27,9$) (Tabela 7 e Figura 10).

Tabela 7 - Valores da média e desvio-padrão ($\pm$ SD) dos percentuais (%) de células com apoptose inicial (APTi) entre os grupos

Grupos	Anexina V	$\pm$ SD
PHS	9,9	6,6 B
IHS	4,2	2,0 B
PHI	73,2	14,2 A
IHI	48,1	27,9 A
PI	15,7	22,0 B
II	15,8	17,2 B

$p < 0,05$

Grupos seguidos de pelo menos uma letra em comum não diferem estatisticamente
Letras maiúsculas comparam médias de grupos

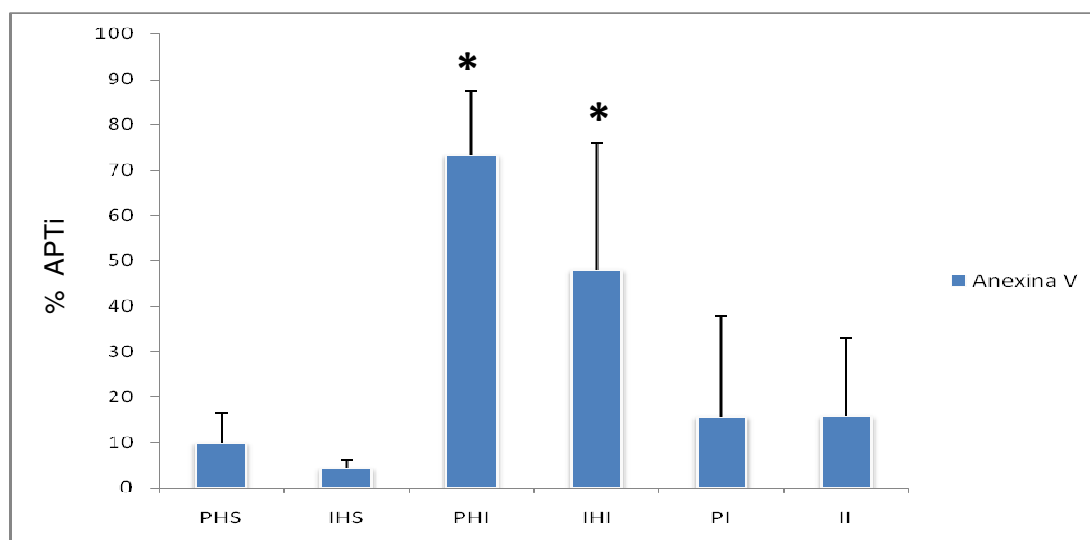


Figura 10 - Percentual (%) de APTi nos seis grupos estudados.

* $p < 0,05$

4.5.2 Células viáveis (CV)

O percentual (%) de CV foi estatisticamente maior nos grupos PHS - propofol + hiperglicemia - *sham* ($80,8 \pm 8,1$), IHS - isoflurano + hiperglicemia - *sham* ($79,9 \pm 3,4$) e II - isoflurano + isquemia ($77,0 \pm 18,4$) em relação aos grupos PHI - propofol + hiperglicemia + isquemia ($25,8 \pm 13,8$) e IHI - isoflurano + hiperglicemia + isquemia ($38,5 \pm 18,4$). O grupo PI - propofol + isquemia ($67,7 \pm 27,2$) ficou em posição intermediária (Tabela 8 e Figura 11).

Tabela 8 - Valores da média e desvio-padrão ($\pm$ SD) dos percentuais (%) de células viáveis entre os grupos

Grupos	% Células Viáveis	$\pm$ SD
PHS	80,8	8,1 A
IHS	79,9	3,4 A
PHI	25,8	13,8 C
IHI	38,5	18,4 BC
PI	67,7	27,2 AB
II	77,0	18,4 A

$p < 0,05$

Grupos seguidos de pelo menos uma letra em comum não diferem estatisticamente
Letras maiúsculas comparam médias de grupos

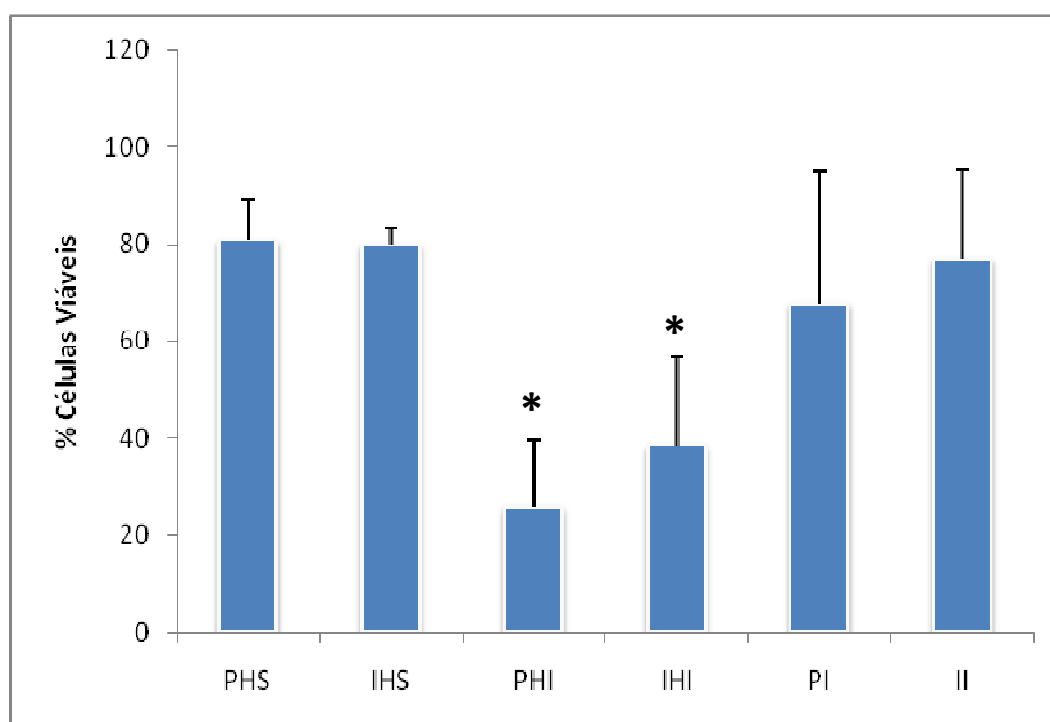


Figura 11 – Percentual (%) de células viáveis nos seis grupos estudados

* $p < 0,05$

5 DISCUSSÃO

5.1 MODELO ANIMAL

Foram escolhidos ratos machos por serem mais susceptíveis à lesão por isquemia e reperfusão (Park et al., 2008).

Os efeitos da variação da temperatura sobre a concentração sanguínea de creatinina durante período isquêmico de 45 minutos em rim esquerdo de rato, após nefrectomia direita foram demonstrados por Delbridge et al. (2007). Os animais foram divididos em três 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 cinco 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. A hipertermia resultou em grave lesão e insuficiência renal, enquanto hipotermia relativa reduziu a lesão renal. Já a normotermia determinou elevação transitória da creatinina. Neste estudo a manutenção da temperatura dos ratos entre 36°C e 38°C, com o uso de bolsas térmicas e monitoração por meio de um termômetro eletrônico com sensor colocado no reto, até poderia ajudar a justificar a elevação da creatinina e as alterações histológicas encontradas no grupo *Sham*.

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. O rim único pode ser mais susceptível à lesão do que quando o outro órgão permanece intacto (Fujii et al., 2005). A nefrectomia direita foi realizada com o objetivo de se prevenir a compensação do rim submetido a I/R pelo rim contralateral.

O tempo de isquemia influencia nos níveis de creatinina plasmática e no grau de lesão. Vinte e cinco minutos de isquemia arterial dobram os valores basais e quarenta e cinco minutos resulta em um aumento de sete a oito vezes, nos níveis plasmáticos da creatinina, com um grau de necrose significativa (> 75%) em relação aos valores basais (Park et al., 2008).

5.2 ISQUEMIA/REPERFUSÃO (I/R)

A reperfusão de tecidos isquêmicos está frequentemente associada com a disfunção microvascular com comprometimento da dilatação das arteríolas do endotélio, aumento da filtração de fluidos, agregação dos leucócitos aos capilares, migração de leucócitos e extravasamento de proteínas plasmáticas nas vênulas pós-capilares. No período inicial após a reperfusão, a ativação das células endoteliais, em todos os segmentos da micro circulação, produz mais radicais de oxigênio e menos NO. Nas células endoteliais, o desequilíbrio entre os superóxidos e o NO leva a produção e a liberação de mediadores inflamatórios (tais como: fator ativador de plaqueta e fator de necrose tumoral) e aumenta a biossíntese de moléculas de adesão que mediam a adesão celular leucócito-endotelial (Carden & Granger, 2000).

O modelo experimental utilizado neste estudo, para a I/R em animais normotérmicos, é semelhante a outros modelos e o tempo de isquemia tem se mostrado suficiente para produzir as alterações compatíveis com a prática clínica (Park et al., 2008; Vianna et al., 2009). Nos animais que foram submetidos à isquemia-reperfusão, após o clampeamento da artéria renal esquerda, foi observada a mudança da coloração do rim para vermelho escuro (cianose) com aspecto de mosaico. Após a retirada do clampeamento ocorreu o retorno progressivo para a coloração e aspecto iniciais.

A I/R leva a uma resposta inflamatória local e sistêmica caracterizada pela produção de oxidantes, ativação de complementos, adesão leucocitária-endotelial, migração leucocitária transendotelial, agregação plaqueta-

leucocitária, aumento da permeabilidade microvascular e diminuição do relaxamento endotélio-dependente (Carden & Granger, 2000).

5.3 PRÉ-CONDICIONAMENTO

Bland & Lowenstein, em 1976, estudaram o efeito protetor do halotano com a redução do segmento ST, em cães submetidos a uma breve oclusão coronariana.

Murphy et al., em 1992, propuseram o efeito antioxidante do propofol, atribuindo-o a sua semelhança com o alfa-tocoferol (vitamina E), com a sua ação como varredor de radicais livres.

Existem evidências *in vitro* e *in vivo* de que o pré-condicionamento isquêmico ocorre em humanos. Desde a descoberta deste fenômeno, muitos fármacos têm sido descobertos como mimetizadores ou como antagonistas deste mecanismo de proteção. O conhecimento sobre o uso clínico destes fármacos pode melhorar os níveis da proteção celular (Riksen et al., 2004).

As técnicas anestésicas utilizadas neste modelo animal, com o isoflurano ou com o propofol, com ou sem a presença de hiperglicemia, não produziram alterações significativas na pressão arterial média.

A concentração de isoflurano inalada é semelhante à utilizada na prática clínica, em seres humanos.

As doses de propofol utilizadas na prática clínica, em humanos, têm uma variação ampla de 0,02 a 0,2 mg.kg¹.min¹. Runzer et al. (2002) usaram uma dose de 0,5 mg.kg¹.min¹ (como dose baixa) e 2,0 mg.kg¹.min¹ (como dose alta) para estudar a capacidade antioxidante tecidual, durante a anestesia. Cui et al. (2009), relataram que a fórmula experimental do FDA (*Food and Drug Administration - Guidance for Industry and Reviewers: Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers*) para converter a dose de ratos em dose humana equivalente é: Dose Humana Equivalente = Dose do Rato x 0,16. Neste

estudo, a dose de $1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, no rato, equivale a dose de $0,16 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ em humanos.

5.4 HIPERGLICEMIA

Muitos estudos demonstram o efeito prejudicial dos níveis elevados de glicemia e alertam para a necessidade um controle rigoroso, para a diminuição da morbidade e mortalidade (Furnary et al., 2003; Ouattara et al., 2005).

A hiperglicemia tem sido associada a muitas complicações perioperatórias e o controle dos níveis glicêmicos, bem como o uso de estratégias protetoras para os órgãos tem sido objeto de vários estudos (Cherian et al., 1997; Yu et al., 2003; Doenst et al., 2005; Gandhi et al., 2005; Bemeur et al., 2007).

Enquanto a hipoglicemia mimetiza o pré-condicionamento isquêmico (Armstrong et al., 1994; Ebel et al., 2003) a diabetes mellitus e a hiperglicemia tem mostrado o bloqueio da cardioproteção induzida pelo pré-condicionamento isquêmico (Kersten et al., 2000; Ishihara et al., 2001; Kristiansen et al., 2004) e pelo pré-condicionamento induzido por anestésicos (Tanaka et al., 2002; Kehl et al., 2002, 2003) em animais e humanos.

Neste experimento, os valores da glicemia (mg.dL^{-1}) em M2 foram maiores nos quatro grupos que receberam a injeção intraperitoneal de glicose, do que nos dois grupos que receberam a injeção de solução fisiológica, o que demonstra a obtenção de hiperglicemia transitória durante o período de isquemia. Vinte e quatro horas após (M3), os níveis plasmáticos de glicemia retornaram aos valores iniciais (M1), caracterizando o evento hiperglicêmico como transitório.

Na prática clínica, vários fatores como o estresse perioperatório e a infusão de soluções com glicose promovem a hiperglicemia transitória, com níveis semelhantes aos encontrados nos animais deste estudo.

A creatinina é uma substância endógena e a dosagem da sua concentração plasmática é utilizada para a medida da filtração glomerular. (Chantler et al., 1969) A creatinina plasmática é quase que exclusivamente um produto do metabolismo da creatinina e fosfocreatina no músculo esquelético, apesar de que a ingestão de determinados alimentos pode contribuir para as alterações em seus níveis (Rehling et al., 1984). Em pacientes com função renal estável, os níveis plasmáticos da creatinina são quase que constantes, com variação de cerca de 8% (Traynor et al., 2006). Um aumento níveis plasmáticos de creatinina é observado quando há lesão aos néfrons funcionantes.

Bagshaw & Gibney (2008) argumentam que o uso dos valores da creatinina plasmática, para avaliar o ritmo de filtração glomerular tem suas limitações, 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 & Devarajan, 2008). Segundo Moran & Myers (1985), o decréscimo repentino no ritmo de filtração glomerular determinaria elevação lenta da creatinina sanguínea em cerca de dois a três dias.

Como mostra a tabela 5, os grupos *sham* (PHS e IHS), que somente foram submetidos à nefrectomia direita, sem isquemia renal esquerda, sob anestesia com propofol ou isoflurano, apresentaram alterações discretas e não significativas nos valores da creatinina plasmática, entre os momentos. Resultados intermediários foram mostrados pelos grupos submetidos a I/R com normoglicemia (PI e II). Os grupos dos animais submetidos a I/R com hiperglicemia (PHI e IHI), apresentaram um pequeno aumento nos valores, não significativo, entre os momentos M1 e M2, e um aumento acentuado e significativo entre esses e M3, evidenciando o efeito lesivo da hiperglicemia quando associada ao episódio de I/R.

Estes resultados são compatíveis com outros estudos que demonstram o agravamento da lesão isquêmica na presença da hiperglicemia (Cherian et al., 1997; Thomas et al., 2001; Doenst et al., 2005; Gandhi et al., 2005; Di Filippo et al., 2006; Bemeur et al., 2007; Ganji et al., 2007; Hirose et al., 2008).

Em estudo realizado por Lee et al. (2004), com uma hora de pré-tratamento, seguida de com 45 minutos de isquemia-reperfusão, seguida ou não de mais três horas de pós-tratamento, comparando diversos fármacos (pentobarbital, cetamina, sevoflurano, isoflurano, halotano e desflurano) foram encontrados menores níveis de creatinina, em 24, 48 e 72 horas, nos ratos que receberam tratamento pré (uma hora) e pós (três horas), da I/R, com os anestésicos voláteis halogenados, do que nos ratos que receberam pentobarbital ou cetamina. Entre os anestésicos inalatórios halogenados utilizados o desflurano foi o que apresentou os maiores níveis de creatinina plasmática.

A análise histológica das lâminas dos rins, utilizando o escore de lesão proposto por Park et al. (2008), para a avaliação da necrose tubular, demonstrou que os animais pertencentes aos grupos *sham* não apresentaram lesão. A I/R em animais normoglicêmicos apresentou escore de lesão grau 2, nos animais anestesiados com o isoflurano, e grau 3 nos animais anestesiados com o propofol. Os animais hiperglicêmicos, submetidos a I/R, apresentaram elevados escores de lesão, confirmando o efeito lesivo dos níveis elevados de glicose, sem a demonstração dos efeitos protetores sobre a lesão de I/R pelo uso do propofol (grau 4) ou do isoflurano (grau 4,5).

A apoptose, ou a morte programada da célula, que deve ser distinguida com bases em critérios morfológicos e bioquímicos, é diferente da necrose. O mecanismo responsável pela apoptose, após o episódio de I/R, é atribuído ao aumento da atividade da endonuclease, pelo aumento da entrada de cálcio na célula, ou pela liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS). A gravidade da apoptose, após a reperfusão de uma isquemia prolongada, é tempo-dependente (Chien et al., 2001).

As espécies reativas de oxigênio induzem a apoptose causando dano ao ácido desoxirribonucléico (DNA), oxidação das membranas lipídicas e/ou ativação direta e expressão de genes/proteínas responsáveis pela apoptose.

Chien et al. (2001) demonstraram que as espécies reativas de oxigênio são produzidas em quantidades significativas no epitélio dos túbulos

proximais durante a reperfusão e podem ser responsáveis pela apoptose celular. Nas células epiteliais dos túbulos distais, dos rins que foram submetidos a I/R, diferentemente das células dos túbulos proximais, outros mecanismos que não a formação de espécies reativas de oxigênio podem prevalecer na indução da apoptose. O tratamento com superóxido dismutase (SOD) e outras substâncias varredoras de radicais livres pode ser efetivo na prevenção de apoptose mediada pelas espécies reativas de oxigênio, nas células dos túbulos proximais.

A análise dos níveis de apoptose, avaliada pela citometria de fluxo, demonstrou valores sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos normoglicêmicos, mesmo com maior grau de apoptose nos animais que foram submetidos à isquemia, e níveis de apoptose significativamente elevados nos animais hiperglicêmicos, demonstrando os efeitos lesivos da hiperglicemia na presença de episódio de isquemia-reperfusão.

O percentual de células viáveis, também avaliado pela citometria de fluxo, foi maior nos grupos *sham* (PHS e IHS), apresentou valores intermediários nos grupos normoglicêmicos submetidos à isquemia e menores valores, estatisticamente significativos, nos grupos hiperglicêmicos (PHI e IHI), sem a indicação de proteção do isoflurano ou do propofol para a lesão I/R na presença da hiperglicemia.

A lesão renal associada à isquemia-reperfusão resulta de um processo dinâmico, envolvendo a vasculatura e os túbulos renais com uma interação complexa. Os eventos que modulam a vasculatura alterarão o suprimento de oxigênio e nutrientes às células epiteliais e as células epiteliais lesadas responderão com 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 a função (Bonventre & Weinberg, 2003).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observando-se os resultados encontrados, verifica-se que o modelo experimental apresentado produziu: 1) pequenas alterações nos rins que não sofreram I/R, mesmo na presença de hiperglicemia transitória; 2) alterações moderadas nos animais normoglicêmicos submetidos a I/R e 3) foi agressivo para os animais submetidos a I/R na presença da hiperglicemia transitória. Os valores da creatinina plasmática, dos escores de lesão dos estudos histológicos e da citometria de fluxo apresentaram coerências. O uso do propofol ou do isoflurano não demonstrou proteção contra a lesão da I/R na presença da hiperglicemia.

7 CONCLUSÃO

O resultado deste estudo mostra o propofol semelhante ao isoflurano, ou seja, proteção renal a I/R e aumento da lesão renal quando a I/R foi associada à hiperglicemia transitória. Demonstra a ação lesiva da hiperglicemia transitória associada a I/R.

8 REFERÊNCIAS

- Armstrong S, Ganote CE. Preconditioning of isolated rabbit cardiomyocytes: effects of glycolytic blockade, phorbol esters, and ischaemia. *Cardiovasc Res.* 1994 Nov; 28(11):1700-6.
- Azevedo JR, Lima ER, Cossetti RJ, Azevedo RP. Intensive insulin therapy versus conventional glycemic control in patients with acute neurological injury: a prospective controlled trial. *Arq Neuropsiquiatr.* 2007 Sep; 65(3B):733-8.
- Bagshaw SM, Gibney RT. Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med.* 2008 Apr; 36(4 Suppl):S152-8.
- Behrends M, Martinez-Palli G, Niemann CU, Cohen S, Ramachandran R, Hirose R. Acute hyperglycemia worsens hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *J Gastrointest Surg.* 2010 Mar; 14(3):528-35.
- Bemeur C, Ste-Marie L, Montgomery J. Increased oxidative stress during hyperglycemic cerebral ischemia. *Neurochem Int.* 2007 Jun; 50(7-8):890-904.
- Bilotta F, Spinelli A, Giovannini F, Doronzio A, Delfini R, Rosa G. The effect of intensive insulin therapy on infection rate, vasospasm, neurologic outcome, and mortality in neurointensive care unit after intracranial aneurysm clipping in patients with acute subarachnoid hemorrhage: a randomized prospective pilot trial. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2007 Jul; 19(3):156-60.
- Bland JH, Lowenstein E. Halothane-induced decrease in experimental myocardial ischemia in the non-failing canine heart. *Anesthesiology.* 1976 Sep; 45(3):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 Nov; 33(11):1897-918.
- Bonventre JV. Kidney ischemic preconditioning. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2002 Jan; 11(1):43-8.
- Bonventre JV, Weinberg JM. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Aug; 14(8):2199-210.
- Bouchard JF, Lamontagne D. Mechanisms of protection afforded by preconditioning to endothelial function against ischemic injury. *Am J Physiol.* 1996 Nov; 271(5 Pt 2):H1801-6.
- Buljubasic N, Marijic J, Stowe DF, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Halothane reduces dysrhythmias and improves contractile function after global hypoperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg.* 1992 Mar; 74(3):384-94.
- Buljubasic N, Stowe DF, Marijic J, Roerig DL, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Halothane reduces release of adenosine, inosine, and lactate with ischemia and reperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg.* 1993 Jan; 76(1):54-62.

Buljubasic N, Marijic J, Berczi V, Supan DF, Kampine JP, Bosnjak ZJ. Differential effects of etomidate, propofol, and midazolam on calcium and potassium channel currents in canine myocardial cells. *Anesthesiology*. 1996 Nov; 85(5):1092-9.

Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 2000 Feb; 190(3):255-66.

Cason BA, Gamperl AK, Slocum RE, Hickey RF. Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology*. 1997 Nov; 87(5):1182-90.

Chantler C, Garnett ES, Parsons V, Veall N. Glomerular filtration rate measurement in man by the single injection methods using 51Cr-EDTA. *Clin Sci*. 1969 Aug; 37(1):169-80.

Cherian L, Goodman JC, Robertson CS. Hyperglycemia increases brain injury caused by secondary ischemia after cortical impact injury in rats. *Crit Care Med*. 1997 Aug; 25(8):1378-83.

Chien CT, Lee PH, Chen CF, Ma MC, Lai MK, Hsu SM. De novo demonstration and co-localization of free-radical production and apoptosis formation in rat kidney subjected to ischemia/reperfusion. *J Am Soc Nephrol*. 2001 May; 12(5):973-82.

Chow FY, Nikolic-Paterson DJ, Ozols E, Atkins RC, Rollin BJ, Tesch GH. Monocyte chemoattractant protein-1 promotes the development of diabetic renal injury in streptozotocin-treated mice. *Kidney Int*. 2006 Jan; 69(1):73-80.

Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Prevention of Ischemia-Reperfusion Injury. *Anesthesiology*. 2001; 94(6):1133-8.

Cui W, Li Y, Li S, Yang W, Jiang J, Han S, et al. Systemic lidocaine inhibits remifentanyl-induced hyperalgesia via the inhibition of cPKCgamma membrane translocation in spinal dorsal horn of rats. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2009 Oct; 21(4):318-25.

Davis RF, DeBoer LW, Rude RE, Lowenstein E, Maroko PR. The effect of halothane anesthesia on myocardial necrosis, hemodynamic performance, and regional myocardial blood flow in dogs following coronary artery occlusion. *Anesthesiology*. 1983 Nov; 59(5):402-11.

De Hert SG, Van der Linden PJ, Cromheecke S, Meeus R, Nelis A, Van Reeth V. et al. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration. *Anesthesiology*. 2004 Aug; 101(2):299-310.

De Hert SG, Turani F, Mathur S, Stowe DF. Cardioprotection with volatile anesthetics: mechanisms and clinical implications. *Anesth Analg*. 2005 Jun; 100(6):1584-93.

De La Cruz JP, Zanca A, Carmona JA, de la Cuesta FS. The effect of propofol on oxidative stress in platelets from surgical patients. *Anesth Analg*. 1999 Oct; 89(4):1050-5.

Delbridge MS, Shrestha BM, Raftery AT, El Nahas AM, Haylor JL. The effect of body temperature in a rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Transplant Proc*. 2007 Dec; 39(10):2983-5.

Di Filippo C, Marfella R, Cuzzocrea S, Piegari E, Petronella P, Giugliano D, et al. Hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rat increases infarct size associated with low levels of myocardial HO-1 during ischemia/reperfusion. *Diabetes*. 2005 Mar; 54(3):803-10.

Di Filippo C, Cuzzocrea S, Rossi F, Marfella R, D'Amico M. Oxidative stress as the leading cause of acute myocardial infarction in diabetics. *Cardiovasc Drug Rev*. 2006 Summer; 24(2):77-87.

Doenst T, Wijesundera D, Karkouti K, Zechner C, Maganti M, Rao V, et al. Hyperglycemia during cardiopulmonary bypass is an independent risk factor for mortality in patients undergoing cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005 Oct; 130(4):1144.

Dogan Z, Yuzbasioglu MF, Kurutas EB, Yildiz H, Coskuner I, Senoglu N, et al. Thiopental improves renal ischemia-reperfusion injury. *Ren Fail*. 2010 Jan; 32(3):391-5.

Ebel D, Mullenheim J, Frassdorf J, Heinen A, Huhn R, Bohlen T, et al. Effect of acute hyperglycaemia and diabetes mellitus with and without short-term insulin treatment on myocardial ischaemic late preconditioning in the rabbit heart in vivo. *Pflugers Arch*. 2003 May; 446(2):175-82.

Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*. 2002 Oct 15; 106(16):2067-72.

Esposito K, Ciotola M, Schisano B, Misso L, Giannetti G, Ceriello A, et al. Oxidative stress in the metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2006 Oct; 29(9):791-5.

Feng J, Lucchinetti E, Ahuja P, Pasch T, Perriard JC, Zaugg M. Isoflurane postconditioning prevents opening of the mitochondrial permeability transition pore through inhibition of glycogen synthase kinase 3beta. *Anesthesiology*. 2005 Nov; 103(5):987-95.

Feng J, Fischer G, Lucchinetti E, Zhu M, Bestmann L, Jegger D, et al. Infarct-remodeled myocardium is receptive to protection by isoflurane postconditioning: role of protein kinase B/Akt signaling. *Anesthesiology*. 2006 May; 104(5):1004-14.

- Finfer S, Chittock DR, Su SY, Blair D, Foster D, Dhingra V, et al. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med*. 2009 Mar 26; 360(13):1283-97.
- Fujii T, Takaoka M, Tsuruoka N, Kiso Y, Tanaka T, Matsumura Y. Dietary supplementation of L-carnosine prevents ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *Biol Pharm Bull*. 2005 Feb; 28(2):361-3.
- Furnary AP, Gao G, Grunkemeier GL, Wu Y, Zerr KJ, Bookin SO, et al. Continuous insulin infusion reduces mortality in patients with diabetes undergoing coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2003 May; 125(5):1007-21.
- Gandhi GY, Nuttall GA, Abel MD, Mullany CJ, Schaff HV, Williams BA, et al. Intraoperative hyperglycemia and perioperative outcomes in cardiac surgery patients. *Mayo Clin Proc*. 2005 Jul; 80(7):862-6.
- Ganji MR, Charkhchian M, Hakemi M, Nederi GH, Solymanian T, Saddadi F, et al. Association of hyperglycemia on allograft function in the early period after renal transplantation. *Transplant Proc*. 2007 May; 39(4):852-4.
- Hartner A, Veelken R, Wittmann M, Cordasic N, Hilgers KF. Effects of diabetes and hypertension on macrophage infiltration and matrix expansion in the rat kidney. *BMC Nephrol*. 2005; 6(1):6.
- Haukoos J, Korthuis R, Niemann J. Inflammatory and immunologic responses to ischemia and reperfusion. In: Paradis N, Halperin H, Kern K, Wenzel V, Douglas A, editors. *Cardiac Arrest - The Science and Practice of Resuscitation Medicine*. Cambridge: Cambridge University Press; 2007. p. 163-76.
- Heindl B, Becker BF, Zahler S, Conzen PF. Volatile anaesthetics reduce adhesion of blood platelets under low-flow conditions in the coronary system of isolated guinea pig hearts. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1998 Sep; 42(8):995-1003.
- Heindl B, Conzen PF, Becker BF. The volatile anesthetic sevoflurane mitigates cardiodepressive effects of platelets in reperfused hearts. *Basic Res Cardiol*. 1999a Apr; 94(2):102-11.
- Heindl B, Reichle FM, Zahler S, Conzen PF, Becker BF. Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing postischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. *Anesthesiology*. 1999b Aug; 91(2):521-30.
- Heyndrickx GR. Early reperfusion phenomena. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2006 Sep; 10(3):236-41.
- Hirose R, Xu F, Dang K, Liu T, Behrends M, Brakeman PR, et al. Transient hyperglycemia affects the extent of ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Anesthesiology*. 2008 Mar; 108(3):402-14.

- Hu G, Vasiliauskas T, Salem MR, Rhone DP, Crystal GJ. Neutrophils pretreated with volatile anesthetics lose ability to cause cardiac dysfunction. *Anesthesiology*. 2003 Mar; 98(3):712-8.
- Ishihara M, Inoue I, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Nishioka K, et al. Diabetes mellitus prevents ischemic preconditioning in patients with a first acute anterior wall myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Oct; 38(4):1007-11.
- Islam CF, Mathie RT, Dinneen MD, Kiely EA, Peters AM, Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney: the effect of preconditioning. *Br J Urol*. 1997 Jun; 79(6):842-7.
- Javadov SA, Lim KH, Kerr PM, Suleiman MS, Angelini GD, Halestrap AP. Protection of hearts from reperfusion injury by propofol is associated with inhibition of the mitochondrial permeability transition. *Cardiovasc Res*. 2000 Jan 14; 45(2):360-9.
- Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 1999 Sep; 43(4):860-78.
- Julier K, da Silva R, Garcia C, Bestmann L, Frascarolo P, Zollinger A, et al. Preconditioning 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 Jun; 98(6):1315-27.
- Kamada H, Yu F, Nito C, Chan PH. Influence of hyperglycemia on oxidative stress and matrix metalloproteinase-9 activation after focal cerebral ischemia/reperfusion in rats: relation to blood-brain barrier dysfunction. *Stroke*. 2007 Mar; 38(3):1044-9.
- Karashima Y, Oike M, Takahashi S, Ito Y. Propofol prevents endothelial dysfunction induced by glucose overload. *Br J Pharmacol*. 2002 Nov; 137(5):683-91.
- Kato R, Foex P. Myocardial protection by anesthetic agents against ischemia-reperfusion injury: an update for anesthesiologists. *Can J Anaesth*. 2002 Oct; 49(8):777-91.
- Kehl F, Krolikowski JG, Mraovic B, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. Hyperglycemia prevents isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction. *Anesthesiology*. 2002 Jan; 96(1):183-8.
- Kehl F, Krolikowski JG, Weihrauch D, Pagel PS, Warltier DC, Kersten JR. N-acetylcysteine restores isoflurane-induced preconditioning against myocardial infarction during hyperglycemia. *Anesthesiology*. 2003 Jun; 98(6):1384-90.
- Kersten JR, Schmeling TJ, Hettrick DA, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Mechanism of myocardial protection by isoflurane. Role of adenosine triphosphate-regulated potassium (KATP) channels. *Anesthesiology*. 1996 Oct; 85(4):794-807; discussion 27A.

- Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology*. 1997 Aug; 87(2):361-70.
- Kersten JR, Toller WG, Gross ER, Pagel PS, Warltier DC. Diabetes abolishes ischemic preconditioning: role of glucose, insulin, and osmolality. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000 Apr; 278(4):H1218-24.
- Kloner RA, Speakman MT, Przyklenk K. Ischemic preconditioning: a plea for rationally targeted clinical trials. *Cardiovasc Res*. 2002 Aug 15; 55(3):526-33.
- Ko SH, Yu CW, Lee SK, Choe H, Chung MJ, Kwak YG, et al. Propofol attenuates ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Anesth Analg*. 1997 Oct; 85(4):719-24.
- Kokita N, Hara A, Abiko Y, Arakawa J, Hashizume H, Namiki A. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts. *Anesth Analg*. 1998 Feb; 86(2):252-8.
- Kong HY, Zhu SM, Wang LQ, He Y, Xie HY, Zheng SS. Sevoflurane protects against acute kidney injury in a small-size liver transplantation model. *Am J Nephrol*. 2010 Oct; 32(4):347-55.
- Kowalski C, Zahler S, Becker BF, Flaucher A, Conzen PF, Gerlach E, et al. Halothane, isoflurane, and sevoflurane reduce postischemic adhesion of neutrophils in the coronary system. *Anesthesiology*. 1997 Jan; 86(1):188-95.
- Kristiansen SB, Lofgren B, Stottrup NB, Khatir D, Nielsen-Kudsk JE, Nielsen TT, et al. Ischaemic preconditioning does not protect the heart in obese and lean animal models of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2004 Oct; 47(10):1716-21.
- Lee HT, Ota-Setlik A, Fu Y, Nasr SH, Emala CW. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia-reperfusion injury in vivo. *Anesthesiology*. 2004 Dec; 101(6):1313-24.
- Liu KX, Rinne T, He W, Wang F, Xia Z. Propofol attenuates intestinal mucosa injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in the rat. *Can J Anaesth*. 2007 May; 54(5):366-74.
- Lorsomradee S, Cromheecke S, Lorsomradee S, De Hert SG. Cardioprotection with volatile anesthetics in cardiac surgery. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2008 Jun; 16(3):256-64.
- Louvier N, Lancon JP. [Do halogenated anesthetics protect from ischemic and reperfusion myocardial injuries?]. *Ann Fr Anesth Reanim*. 1994; 13(5):690-8.

Malmberg K, Ryden L, Hamsten A, Herlitz J, Waldenstrom A, Wedel H. Effects of insulin treatment on cause-specific one-year mortality and morbidity in diabetic patients with acute myocardial infarction. DIGAMI Study Group. Diabetes Insulin-Glucose in Acute Myocardial Infarction. Eur Heart J. 1996 Sep; 17(9):1337-44.

Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S. The protein kinase complement of the human genome. Science. 2002 Dec 6;298(5600):1912-34.

Mathur S, Farhangkhgoee P, Karmazyn M. Cardioprotective effects of propofol and sevoflurane in ischemic and reperfused rat hearts: role of K(ATP) channels and interaction with the sodium-hydrogen exchange inhibitor HOE 642 (cariporide). Anesthesiology. 1999 Nov; 91(5):1349-60.

McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med. 1985 Jan 17; 312(3):159-63.

Molojavyi A, Preckel B, Comfere T, Mullenheim J, Thamer V, Schlack W. Effects of ketamine and its isomers on ischemic preconditioning in the isolated rat heart. Anesthesiology. 2001 Apr; 94(4):623-9; discussion 5A-6A.

Moran SM, Myers BD. Course of acute renal failure studied by a model of creatinine kinetics. Kidney Int. 1985 Jun; 27(6):928-37.

Mullenheim J, Molojavyi A, Preckel B, Thamer V, Schlack W. Thiopentone does not block ischemic preconditioning in the isolated rat heart. Can J Anaesth. 2001a Sep; 48(8):784-9.

Mullenheim J, Frassdorf J, Preckel B, Thamer V, Schlack W. Ketamine, but not S(+)-ketamine, blocks ischemic preconditioning in rabbit hearts in vivo. Anesthesiology. 2001b Apr; 94(4):630-6.

Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol). Br J Anaesth. 1992 Jun; 68(6):613-8.

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation. 1986 Nov; 74(5):1124-36.

Nakae Y, Fujita S, Namiki A. Propofol inhibits Ca(2+) transients but not contraction in intact beating guinea pig hearts. Anesth Analg. 2000 Jun; 90(6):1286-92.

Neary P, Redmond, HP. Ischaemia-reperfusion injury and the systemic inflammatory response syndrome. In: P.A. Grace, Mathie RT, editors. Ischemia-Reperfusion Injury. London: Blackwell Science; 1999. p. 123-36.

Nguyen MT, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. Pediatr Nephrol. 2008 Dec; 23(12):2151-7.

Novalija E, Fujita S, Kampine JP, Stowe DF. Sevoflurane mimics ischemic preconditioning effects on coronary flow and nitric oxide release in isolated hearts. *Anesthesiology*. 1999 Sep; 91(3):701-12.

Ouattara A, Lecomte P, Le Manach Y, Landi M, Jacqueminet S, Platonov I, et al. Poor intraoperative blood glucose control is associated with a worsened hospital outcome after cardiac surgery in diabetic patients. *Anesthesiology*. 2005 Oct; 103(4):687-94.

Park Y, Hirose R, Dang K, Xu F, Behrends M, Tan V, et al. Increased severity of renal ischemia-reperfusion injury with venous clamping compared to arterial clamping in a rat model. *Surgery*. 2008 Feb; 143(2):243-51.

Parks DA, Granger DN. Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol*. 1986 Jun; 250(6 Pt 1):G749-53.

Pasupathy S, Homer-Vanniasinkam S. Ischaemic preconditioning protects against ischaemia/reperfusion injury: emerging concepts. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2005 Feb; 29(2):106-15.

Ping P, Murphy E. Role of p38 mitogen-activated protein kinases in preconditioning: a detrimental factor or a protective kinase? *Circ Res*. 2000 May 12; 86(9):921-2.

Rehling M, Moller ML, Thamdrup B, Lund JO, Trap-Jensen J. Simultaneous measurement of renal clearance and plasma clearance of 99mTc-labelled diethylenetriaminepenta-acetate, 51Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate and inulin in man. *Clin Sci (Lond)*. 1984 May; 66(5):613-9.

Riksen NP, Smits P, Rongen GA. Ischaemic preconditioning: from molecular characterisation to clinical application--part I. *Neth J Med*. 2004 Nov; 62(10):353-63.

Rodriguez-Lopez JM, Sanchez-Conde P, Lozano FS, Nicolas JL, Garcia-Criado FJ, Cascajo C, et al. Laboratory investigation: effects of propofol on the systemic inflammatory response during aortic surgery. *Can J Anaesth*. 2006 Jul; 53(7):701-10.

Runzer TD, Ansley DM, Godin DV, Chambers GK. Tissue antioxidant capacity during anesthesia: propofol enhances in vivo red cell and tissue antioxidant capacity in a rat model. *Anesth Analg*. 2002 Jan; 94(1):89-93.

Sayin MM, Ozatamer O, Tasoz R, Kilinc K, Unal N. Propofol attenuates myocardial lipid peroxidation during coronary artery bypass grafting surgery. *Br J Anaesth*. 2002 Aug; 89(2):242-6.

Schlack W, Hollmann M, Stunnecke J, Thamer V. Effect of halothane on myocardial reoxygenation injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth*. 1996 Jun; 76(6):860-7.

- Scognamiglio R, Avogaro A, Vigili de Kreutzenberg S, Negut C, Palisi M, Bagolin E, et al. Effects of treatment with sulfonylurea drugs or insulin on ischemia-induced myocardial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002 Mar; 51(3):808-12.
- Skoutelis A, Lianou P, Papageorgiou E, Kokkinis K, Alexopoulos K, Bassaris H. Effects of propofol and thiopentone on polymorphonuclear leukocyte functions in vitro. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1994 Nov; 38(8):858-62.
- Sommerschild HT, Kirkeboen KA. Preconditioning - endogenous defence mechanisms of the heart. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2002 Feb; 46(2):123-37.
- Song HK, Jeong DC. The effect of propofol on cytotoxicity and apoptosis of lipopolysaccharide-treated mononuclear cells and lymphocytes. *Anesth Analg*. 2004 Jun; 98(6):1724-8.
- Spieckermann PG, Bruckner J, Kubler W, Lohr B, Bretschneider HJ. [Preischemic stress and resuscitation time of the heart]. *Verh Dtsch Ges Kreislaufforsch*. 1969; 35:358-64.
- Tanaka K, Kehl F, Gu W, Krolkowski JG, Pagel PS, Warltier DC, et al. Isoflurane-induced preconditioning is attenuated by diabetes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002 Jun; 282(6):H2018-23.
- Tanaka K, Ludwig LM, Kersten JR, Pagel PS, Warltier DC. Mechanisms of cardioprotection by volatile anesthetics. *Anesthesiology*. 2004 Mar; 100(3):707-21.
- Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med*. 1996 May 30; 334(22):1448-60.
- Thomas MC, Mathew TH, Russ GR, Rao MM, Moran J. Early peri-operative glycaemic control and allograft rejection in patients with diabetes mellitus: a pilot study. *Transplantation*. 2001 Oct 15; 72(7):1321-4.
- Traynor J, Mactier R, Geddes CC, Fox JG. How to measure renal function in clinical practice. *Bmj*. 2006 Oct 7; 333(7571):733-7.
- Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato EF, Shindo M, Inoue M. Antioxidant protection of propofol and its recycling in erythrocyte membranes. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Jan 1; 165(1):54-60.
- Turina M, Fry DE, Polk HC, Jr. Acute hyperglycemia and the innate immune system: clinical, cellular, and molecular aspects. *Crit Care Med*. 2005 Jul; 33(7):1624-33.
- Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, et al. Intensive insulin therapy in the critically ill patients. *N Engl J Med*. 2001 Nov 8; 345(19):1359-67.

Vanhorebeek I, Langouche L, Van den Berghe G. Glycemic and nonglycemic effects of insulin: how do they contribute to a better outcome of critical illness? *Curr Opin Crit Care*. 2005 Aug; 11(4):304-11.

Vianna PT, Castiglia YM, Braz JR, Viero RM, Beier S, Vianna Filho PT, et al. Remifentanyl, isoflurane, and preconditioning attenuate renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Transplant Proc*. 2009 Dec; 41(10):4080-2.

Warltier DC, Kersten JR, Pagel PS, Gross GJ. Editorial view: anesthetic preconditioning: serendipity and science. *Anesthesiology*. 2002 Jul; 97(1):1-3.

Weber NC, Schlack W. Inhalational anaesthetics and cardioprotection. *Handb Exp Pharmacol*. 2008(182):187-207.

Xia Z, Huang Z, Ansley DM. Large-dose propofol during cardiopulmonary bypass decreases biochemical markers of myocardial injury in coronary surgery patients: a comparison with isoflurane. *Anesth Analg*. 2006 Sep; 103(3):527-32.

Yamaguchi S, Hamaguchi S, Mishio M, Okuda Y, Kitajima T. Propofol prevents lipid peroxidation following transient forebrain ischemia in gerbils. *Can J Anaesth*. 2000 Oct; 47(10):1025-30.

Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev*. 2003 Oct; 83(4):1113-51.

Yoo KY, Yang SY, Lee J, Im WM, Jeong CY, Chung SS, et al. Intracoronary propofol attenuates myocardial but not coronary endothelial dysfunction after brief ischaemia and reperfusion in dogs. *Br J Anaesth*. 1999 Jan; 82(1):90-6.

Yu WK, Li WQ, Li N, Li JS. Influence of acute hyperglycemia in human sepsis on inflammatory cytokine and counterregulatory hormone concentrations. *World J Gastroenterol*. 2003 Aug; 9(8):1824-7.

Yuzbasioglu MF, Aykas A, Kurutas EB, Sahinkanat T. Protective effects of propofol against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys. *Ren Fail*. 2010 Jun; 32(5):578-83.

Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Schaub MC. Volatile anesthetics mimic cardiac preconditioning by priming the activation of mitochondrial K(ATP) channels via multiple signaling pathways. *Anesthesiology*. 2002a Jul; 97(1):4-14.

Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC. Differential effects of anesthetics on mitochondrial K(ATP) channel activity and cardiomyocyte protection. *Anesthesiology*. 2002b Jul; 97(1):15-23.

Zhang Y, Irwin MG, Wong TM, Chen M, Cao CM. Remifentanyl preconditioning confers cardioprotection via cardiac kappa- and delta-opioid receptors. *Anesthesiology*. 2005 Feb; 102(2):371-8.