



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

VITÓRIA MARIA DE FREITAS FRANCO

**EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon Citratus* EM MODELO DE
LESÃO RENAL AGUDA INDUZIDA POR GENTAMICINA EM ZEBRAFISH**

FORTALEZA

2025

VITÓRIA MARIA DE FREITAS FRANCO

EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon Citratus* EM MODELO DE
LESÃO RENAL AGUDA INDUZIDA POR GENTAMICINA EM ZEBRAFISH

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para a obtenção para o título de Mestra em Farmacologia.
Área de concentração: Toxicologia pré-clínica

Orientadora: Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro
Coorientador: José Eduardo Ribeiro Honório Júnior

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

F897e Franco, Vitória Maria de Freitas.

Efeito do óleo essencial de *Cymbopogon Citratus* em modelo de lesão renal aguda induzida por gentamicina em zebrafish / Vitória Maria de Freitas Franco. – 2025.

95 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica, Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Helena Serra Azul Monteiro.

Coorientação: Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior.

1. *Cymbopogon citratus*. 2. Zebrafish. 3. Lesão Renal Aguda. 4. Gentamicina. 5. Comportamento. I. Título.

615.1

CDD

VITÓRIA MARIA DE FREITAS FRANCO

EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *CYMBOPOGON CITRATUS* EM MODELO
DE LESÃO RENAL AGUDA INDUZIDA POR GENTAMICINA EM ZEBRAFISH

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para a obtenção para o título de Mestra em Farmacologia.

Área de concentração: Toxicologia pré-clínica

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Eduardo Ribeiro Honório Júnior
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Profa. Dra. Aline Diogo Marinho
Centro Universitário INTA, (UNINTA)

Profa. Dra. Virgínia Cláudia Carneiro Girão
Universidade Federal do Ceará (UFC)

FORTALEZA

2025

*“Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais e ao meu noivo,
que me sustentaram com amor e fé durante esta caminhada.”*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela dádiva da vida, por sempre me guiar e fortalecer em mais uma etapa da minha trajetória. Reconheço que sem Ele não seria possível concluir este trabalho. Sou grata pelo amor, pela sabedoria, pela força e pela resiliência que me concedeu, assim como por todas as bênçãos que tem provisto em minha vida. A Ele, minha eterna gratidão e honra.

À minha família, especialmente aos meus pais, que sempre foram minha base e inspiração. Em especial à minha mãe, pelo encorajamento constante, pelo amor incondicional, pela compreensão em todos os momentos da minha vida e, sobretudo, pela dedicação na minha educação, criação e formação. Ao meu noivo, pelo carinho, paciência, apoio, companheirismo e amor durante esta caminhada.

Cada um de vocês desempenhou um papel fundamental na pessoa que me tornei. Sinto-me verdadeiramente abençoada por ter uma família tão especial e abençoada, que sempre esteve ao meu lado em todas as etapas desta jornada.

À Professora Helena, pela orientação extremamente humana, dedicada e paciente, sempre oferecendo apoio, incentivo e partilhando seu vasto conhecimento. Sua disponibilidade, confiança e generosidade foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao meu coorientador, Professor Eduardo, pela confiança depositada em mim ao longo desses anos, pelo incentivo em trilhar os caminhos da pesquisa científica e por se mostrar sempre um exemplo de cientista íntegro e inspirador, além de um amigo generoso. Agradeço por todas as oportunidades e aprendizados.

À Professora Roberta Jeane, do Laboratório de Toxinologia, pelo acolhimento sempre generoso, pela confiança depositada em mim, pela valiosa ajuda e por todo o aprendizado proporcionado, que contribuíram imensamente para meu crescimento acadêmico e pessoal.

À pós-doutoranda Celeste, pela constante disponibilidade, pelo companheirismo no laboratório e pelos inúmeros aprendizados compartilhados. À Professora Virginia Girão, pela valiosa ajuda, constante disponibilidade e pelo aprendizado transmitido ao longo desta jornada.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Toxinologia, que foram indispensáveis durante essa jornada, pela constante gentileza, pela ajuda prestativa, pelo companheirismo diário e pelas valiosas trocas de conhecimento. Agradeço

também pelos momentos de descontração e amizade, que tornaram o ambiente de trabalho mais leve e agradável, contribuindo não apenas para o meu crescimento acadêmico, mas também pessoal. Um agradecimento especial à minha amiga Raquel pela presença sempre acolhedora, pelo apoio incondicional, por toda ajuda dedicada ao desenvolvimento deste estudo e pelos inúmeros aprendizados e risadas compartilhados ao longo do caminho. Sua amizade é um presente que levarei para a vida.

Aos meus amigos e colegas do Neurocit, pelo apoio constante, pelo companheirismo e pela colaboração em todos os momentos desta jornada, contribuindo significativamente para meu crescimento acadêmico, em especial aos integrantes do LabZebra, que tornaram a experiência ainda mais enriquecedora.

Aos meus amigos e amigas, em especial aqueles do grupo de oração, pelo apoio constante, incentivo e companheirismo. Agradeço também pelo suporte espiritual, que trouxe equilíbrio e serenidade nos momentos desafiadores desta jornada acadêmica.

À Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira e ao seu aluno doutorando Igor Lima, pelo fornecimento dos compostos essenciais para esta pesquisa, sem os quais a realização deste trabalho não teria sido possível. Agradeço também pela atenção, disponibilidade e suporte durante todo o processo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia (PPGFAR), pelo compartilhamento de conhecimento, pela orientação acadêmica e pelo incentivo ao desenvolvimento científico. Agradeço também pelas discussões enriquecedoras e pelo exemplo de dedicação à pesquisa, que foram fundamentais para minha formação profissional e pessoal.

Agradeço ao Unichirtus – Laboratório de Zebrafish e ao NPDM pelo acolhimento, pela infraestrutura disponibilizada e pelo apoio indispensável à realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, que tornou possível a realização desta pesquisa e contribuiu significativamente para meu desenvolvimento acadêmico e científico.

Um agradecimento final a todos: minha profunda gratidão a cada um de vocês, que são verdadeiros presentes de Deus em minha vida, tornando esta jornada mais leve, rica e significativa.

*“Porque para Deus nada é impossível”.
(Lucas 1:37)*

RESUMO

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (CCEO), rico em citral, possui propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, tornando-se uma possível opção nefroprotetora contra lesões renais agudas. Deste modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar se o CCEO pode modular a toxicidade renal induzida por gentamicina, refletida em parâmetros comportamentais e estresse oxidativo. Zebrafish adultos foram tratados com gentamicina, isoladamente ou em associação com CCEO nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg. Grupos controles foram incluídos. Foram avaliados parâmetros comportamentais, fisiológicos e bioquímicos. No teste de campo aberto, o tratamento com CCEO não promoveu diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos grupos avaliados quando comparado ao controle ($p = 0,1122$). Entretanto, no teste claro/escuro, a dose de 10 mg/kg restaurou parcialmente o comportamento exploratório, aumentando o número de transições em comparação ao grupo Injury ($p = 0,0382$). Nos marcadores bioquímicos, o CCEO reduziu significativamente os níveis de MDA nas doses de 10 mg/kg ($p = 0,0004$) e 100 mg/kg ($p = 0,0031$), enquanto a dose de 50 mg/kg promoveu um aumento significativo de GSH em relação ao grupo Naïve ($p = 0,0091$). Em conclusão, os resultados demonstram que o CCEO exerce efeitos antioxidantes, os quais contribuem para a atenuação das alterações fisiológicas e comportamentais observadas, confirmando sua ação e reforçando a sua relevância na nefrotoxicidade induzida por gentamicina.

Palavras-chave: *Cymbopogon citratus*; Zebrafish; Lesão Renal Aguda; Gentamicina; Estresse Oxidativo; Comportamento; Farmacologia.

Effects of *Cymbopogon citratus* Essential Oil in a Gentamicin-Induced Acute Kidney Injury Model in Zebrafish

ABSTRACT

The *Cymbopogon citratus* essential oil (CCEO), rich in citral, exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties, making it a potential nephroprotective agent against acute kidney injury. Thus, the aim of the present study was to evaluate whether CCEO can modulate gentamicin-induced renal toxicity, as reflected by behavioral parameters and oxidative stress. Adult zebrafish were treated with gentamicin alone or in combination with CCEO at doses of 10, 50, and 100 mg/kg. Control groups were included. Behavioral, physiological, and biochemical parameters were assessed. In the open field test, treatment with CCEO did not promote statistically significant differences in any of the evaluated groups when compared to the control ($p = 0.1122$). However, in the light/dark test, the 10 mg/kg dose partially restored exploratory behavior, increasing the number of transitions compared to the Injury group ($p = 0.0382$). Regarding biochemical markers, CCEO significantly reduced MDA levels at doses of 10 mg/kg ($p = 0.0004$) and 100 mg/kg ($p = 0.0031$), whereas the 50 mg/kg dose significantly increased GSH levels compared to the Naïve group ($p = 0.0091$). In conclusion, the results demonstrate that CCEO exerts antioxidant effects, which contribute to the attenuation of the physiological and behavioral alterations observed, confirming its activity and reinforcing its relevance in gentamicin-induced nephrotoxicity.

Keywords: *Cymbopogon citratus*; Zebrafish; Acute Kidney Injury; Gentamicin; Oxidative Stress; Behavior; Pharmacology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Zebrfish adulto em visão lateral.....	25
Figura 2	Comparação esquemática do néfron em mamíferos, embriões e adultos de zebrfish.....	26
Figura 3	Planta <i>Cymbopogon citratus</i> (Capim-limão)	29
Figura 4	Desenho experimental ilustrando as fases do estudo: toxicidade aguda (OECD 203) e lesão renal induzida por gentamicina.....	34
Figura 5	Cronograma do experimento.....	38
Figura 6	Campo aberto.....	39
Figura 7	Claro/escuro.....	40
Figura 8	Equações para estimar a DL50.....	43
Figura 9	Mapa de calor da frequência de sintomas após exposição aguda óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	44
Figura 10	Avaliação do comportamento locomotor após administração de óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i> (CCEO).....	45
Figura 11	Atividade locomotora no teste de campo aberto em zebrfish com LRA induzida por gentamicina.....	46
Figura 12	(A) Tempo no claro e (B) número de transições em zebrfish com LRA induzida por gentamicina.....	48
Figura 13	Concentração de GSH ($\mu\text{g/g}$ de tecido) nos grupos experimentais.....	49
Figura 14	Concentração de nitrito (nmol/g de tecido) nos grupos experimentais.....	50
Figura 15	Concentração de MDA ($\mu\text{g/g}$ de tecido) nos grupos experimentais.....	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Organização dos grupos experimentais.....	37
Quadro 2	Equações para Estimar a DL_{50}	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Efeito das diferentes doses de CCEO na mortalidade de zebrafish.....	43
----------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ATP	Adenosina Trifosfato
CAT	Catalase
<i>C. citratus</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>
CCEO	Óleo Essencial de <i>Cymbopogon citratus</i>
CL50 / DL50	Concentração Letal 50%
Cmax	Concentração Plasmática Máxima
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EC50	Concentração Efetora 50%
EPM	Erro Padrão da Média
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FRAP	Poder Antioxidante de Redução Férrica
GPx	Glutational Peroxidase
GR	Glutational Redutase
GSH	Glutational Reduzida
GSH/GSSG	Razão GSH/GSSG
HE	Hematoxilina e Eosina
IC50	Concentração Inibitória 50%
IL-1 β	Interleucina 1 Beta
IL-6	Interleucina 6
iNOS	Óxido Nítrico Sintase Induzível
i.p.	Intraperitoneal
IRA	Insuficiência Renal Aguda

Kf	Coeficiente de Ultrafiltração Glomerular
LRA	Lesão Renal Aguda
MDA	Malondialdeído
NAC	N-Acetilcisteína
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
NO	Óxido Nítrico
NPDM-UFC	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos – UFC
Nrf2	Fator Nuclear Eritroide 2 Relacionado ao Fator 2
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RBF	Fluxo Sanguíneo Renal
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
SOD	Superóxido Dismutase
SUS	Sistema Único de Saúde
TBARS	Ácido Tiobarbitúrico
TCC	Conteúdo Total de Carotenoides
TECs	Células Tubulares Renais
TFC	Conteúdo Total de Flavonoides
TPC	Teor Fenólico Total
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TGF-β	Fator de Crescimento Transformador Beta
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
UPR	Resposta à Proteína Mal Dobrada
ZFa	Zebrafish Adultos

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	18
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1	Lesão Renal	20
2.2	Fisiopatologia da lesão renal aguda por gentamicina	21
2.3	Zebrafish Modelo De Lesão Renal	24
2.4	Plantas medicinais	26
2.4.1	<i>Cymbopongo Citratus</i>	27
3.	RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	30
4.	OBJETIVOS	32
4.1	Objetivo geral	32
4.2	Objetivos específicos	32
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
5.4.1	Avaliação da Toxicidade Aguda segundo a Diretriz OECD 203.....	35
5.4.2	Protocolo de Lesão Renal Aguda Induzida por Gentamicina	36
5.5	Avaliação Comportamental	37
5.5.1	Teste do campo aberto	38
5.5.1	Teste do claro/escuro.....	38
5.6	Determinação de parâmetros de estresse oxidativo	39
5.6.1	Determinação da concentração de glutathione reduzida	39
5.6.2	Determinação da concentração de nitrito	40
5.6.3	Avaliação da peroxidação lipídica.....	40
5.7	Análise Estatísticas.....	40
6	RESULTADOS	42
6.1	Toxicologia	42

6.2	Protocolo de Lesão Renal Aguda Induzida por Gentamicina.....	45
6.2.1	Comportamento.....	45
6.2.1.1	Campo aberto.....	45
6.2.1.2	Claro/Escuro.....	46
6.2.2	Estresse oxidativo	48
6.2.2.1	GSH.....	48
6.3.2	Nitrito	49
6.3.3	Tbars	50
7.	DISCUSSÃO	52
8.	CONCLUSÃO.....	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXO A.....	92
	ANEXO B.....	93

1. INTRODUÇÃO

A Lesão Renal Aguda, anteriormente chamada de Insuficiência Renal Aguda (IRA), é estabelecida como uma das principais contribuições para o início e progressão da Doença Renal Crônica. A síndrome de LRA é associada a complicações de curto prazo e efeitos de longo prazo, incluindo progressão para DRC e morbimortalidade elevada (Niculae *et al.*, 2023).

A LRA tem se tornado uma condição cada vez mais prevalente entre os pacientes hospitalizados. Estima-se que ocorra em 5 a 7,5 % dos pacientes internados em enfermarias gerais e em 50 a 60 % dos pacientes críticos (Yoon *et al.*, 2022). A prevalência de LRA em pacientes hospitalizados aumentou de 15,5 % em 2011 para 26,8 % em 2021, com um pico significativo 2020, durante o ano inaugural da pandemia de COVID-19, quando as taxas ultrapassaram 50 % em UTI e em ambiente pós-operatório de cirurgia cardíaca (Neyra; Chawla, 2021; Zhang; Tingfang; Widdop; Ricardo, 2024).

No entanto, apesar da diálise estar disponível como um tratamento de suporte para os casos graves de LRA, a taxa de mortalidade associada é bastante alta, especialmente entre os pacientes internados em UTI. A causa subjacente a esses achados é a falta de intervenções terapêuticas eficazes, capazes de reverter completamente o dano renal ou impedir a progressão para DRC (Neyra; Chawla, 2021; Zhang; Tingfang; Widdop; Ricardo, 2024).

Nesse contexto, é imprescindível o desenvolvimento de novas terapias para tratar a lesão renal. A utilização de modelos animais tem se revelado um recurso importante tanto para a pesquisa de várias doenças quanto para a identificação e análise de compostos com possíveis efeitos terapêuticos (Lim *et al.*, 2022; Outtandy *et al.*, 2019). Nesse cenário, o zebrafish (*Danio rerio*) se destaca como uma alternativa promissora, auxiliando na diminuição do uso de modelos mamíferos, em alinhamento com os princípios dos 3R's (Substituição, Redução e Refinamento). Ademais, essa espécie possui uma anatomia renal básica semelhante à dos rins de mamíferos, com estruturas que realizam a filtração glomerular e tubular (Lim *et al.*, 2022; Outtandy *et al.*, 2019; Schenk; Drummond, 2025).

De forma concomitante, a aplicação de substâncias naturais e derivados de plantas, que possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, tem

despertado atenção cada vez maior na procura por opções de tratamento que sejam menos tóxica (Kang *et al.*, 2021). O *Cymbopogon citratus* (capim-limão) é uma planta de ampla utilização na medicina tradicional e reconhecida por conter óleo essencial rico em citral, associado a diversos efeitos benéficos (Temitayo *et al.*, 2020). Assim, a pesquisa sobre as propriedades nefroprotetoras do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* contra lesão renal induzida por gentamicina em zebrafish é uma abordagem relevante no desenvolvimento de novas estratégias de prevenção e tratamento da nefrotoxicidade induzida por medicamentos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Lesão Renal

Diversas funções fisiológicas essenciais, como o controle da pressão artéria, regulação do hidroeletrolítico, a eritropoiese, o equilíbrio ácido-base e a homeostase, são executadas pelos rins (Imig; Ryan, 2013). Por isso, o mau funcionamento, leva a várias enfermidades. Segundo Cockewell e Fisher (2020), a prevalência mundial da doença renal, foi constada um total de 9,1%, equivalente a aproximadamente 700 milhões de casos, o que representa um aumento de 29,3% em relação a 1990.

Estima-se que no Brasil, a cada ano, cerca de 20 milhões de brasileiros precisam de alguma forma de terapia substitutiva (Dutra; Parisi, 2021). Em 2018, aproximadamente 133.464 pacientes estavam em tratamento dialítico, sendo que 92,3% em hemodiálise, 7,7% em diálise peritoneal e 22,1% do total de pacientes em tratamento estavam em fila de espera para realização de transplante renal, o que equivale a 29.545 pacientes (Neves *et al.*, 2020; Dutra; Parisi, 2021). A partir desses dados, é possível constatar que a doença renal representa um importante problema de saúde, que muitas vezes é negligenciado. Assim, medidas preventivas devem ser tomadas para evitar essa patologia.

Existem duas categorias principais de doenças renais: crônicas ou agudas. A lesão renal aguda (LRA) geralmente está relacionada a infecções bacterianas, sepse, isquemia/reperfusão ou exposição a medicamentos potencialmente nefrotóxicos (Almeida; Sylvestre, 2020; Imig; Ryan, 2013). Embora os eventos que dão origem às doenças renais possam variar, é importante destacar que a lesão renal aguda (LRA) pode evoluir para doença renal crônica (DRC), a qual, se não tratada, pode levar à doença renal terminal (Imig; Ryan, 2013).

Por décadas, a LRA e a DRC foram vistas como síndromes separadas. Tradicionalmente, pensava-se que a função renal poderia ser completamente recuperada após um episódio de LRA, por meio de mecanismos endógenos de reparo estrutural (Zhang, Tingfang; Widdop; Ricardo, 2024). No entanto, Há uma ligação epidemiológica e fisiopatológica entre LRA e DRC, que agora são vistas como síndromes clínicas interconectadas, nas quais um episódio agudo de lesão renal pode acelerar a progressão para a doença crônica (Zhang; Widdop; Ricardo, 2024).

A LRA é caracterizada por um rápido declínio na taxa de filtração glomerular e

consequente acúmulo de resíduos metabólicos (Mercado; Smith; Guard, 2019), sendo caracterizada por aumento da creatinina sérica e/ou diminuição do débito urinário ao longo das horas ou dias (Jacob; Dannenhoffer; Rutter, 2020; Petejova *et al.*, 2020). A LRA aumenta as chances de desenvolver problemas cardiovasculares, doença renal crônica e morte (Jacob; Dannenhoffer; Rutter, 2020). A LRA se apresenta com necrose tubular aguda, azotemia pré-renal, nefrite intersticial aguda, doença renal vasculítica e glomerulares agudas e nefropatia obstrutiva pós-renal. Essas condições podem coexistir em um único paciente (Koza, 2014).

A gentamicina é um antibiótico usado no tratamento de infecções bacterianas causadas por bactérias gram-negativas. Ele é eficiente contra *Pseudomonas sp.*, *Proteus sp* e *Serratia sp*. No entanto, este antimicrobiano pode causar nefrotoxicidade, devido à produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que danificam a estrutura e função renal (Mahmoud; Farag, 2017; Sharma *et al.*, 2022).

A lesão renal causada pela gentamicina decorre de três mecanismos: tubulares, glomerulares e vasculares. A nefrotoxicidade causa lesão e morte das células do túbulo renal, alterações funcionais nos componentes celulares envolvidos no transporte de água e soluto, contração mesangial e vasoconstrição. O estresse oxidativo e a inflamação estão associados ao dano renal (Lopez-Novoa *et al.*, 2011; Randjelović *et al.*, 2017). A LRA é uma condição que engloba várias complicações para o paciente e está relacionada à mortalidade. Para prevenir a nefrotoxicidade, que é uma das principais causas da doença renal, é necessário adotar medidas terapêuticas. Diante dessa circunstância, foi conduzido um estudo de nefrotoxicidade utilizando gentamicina, com o objetivo de avaliar o potencial efeito nefroprotetor do óleo essencial de *Cymbopongo citratus*.

2.2 Fisiopatologia da lesão renal aguda por gentamicina

A gentamicina induz a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs) nas células tubulares renais, como ânion superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio. Esses compostos intensificam o estresse oxidativo e reduzem a atividade dos sistemas antioxidantes celulares (Baradaran; Nasri; Rafieian, (2015). Paralelamente, há aumento da expressão do Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF- β) e da endotelina-1, além de infiltração de células inflamatórias, ruptura da membrana basal e congestão glomerular. Tais alterações resultam em disfunção renal e redução da taxa de filtração glomerular (TFG)(Gamaan;

Zaky; Ahmed, 2023; Gentle *et al.*, 2013; Martínez-Salgado *et al.*, 2002).

A gentamicina é filtrada pelos glomérulos e reabsorvida principalmente pelas células do túbulo proximal e ducto coletor, onde tende a se acumular. Esse acúmulo compromete diversas organelas, incluindo o retículo endoplasmático, complexo de Golgi e mitocôndrias (Olbricht; Fink; Gutjahr, 1991; Petejova *et al.*, 2020). Embora afete principalmente os túbulos, também pode causar lesões glomerulares.

A toxicidade tubular manifesta-se de duas formas: morte celular, predominantemente no túbulo proximal e disfunção sem morte celular. A entrada da gentamicina nas células ocorre por endocitose mediada por receptores como o complexo megalina-cubilina. Após internalização, a droga trafega por endossomos e se acumula em lisossomos, distribuindo-se também pelo retículo endoplasmático e complexo de Golgi (Nagai; Takano, 2014; Quiros *et al.*, 2011).

No retículo endoplasmático, a gentamicina interfere na síntese e no correto dobramento de proteínas, desencadeando estresse do retículo e ativando a resposta à proteína mal dobrada (UPR), o que pode induzir vias pró-apoptóticas mediadas por calpaínas e caspase-12 (Igwebuike *et al.*, 2020; Oishi *et al.*, 2015). Em altas concentrações, ocorre rompimento da membrana endossomal e liberação de hidrolases lisossomais no citosol, contribuindo para disfunção mitocondrial e prejuízo à respiração celular (Lopez-Novoa *et al.*, 2011).

No citosol, a gentamicina compromete diretamente a função mitocondrial, interferindo na cadeia respiratória, reduzindo a produção de ATP e aumentando a geração de EROs, o que ativa a via intrínseca da apoptose (O'Reilly *et al.*, 2019). A toxicidade mitocondrial também pode ocorrer de forma indireta pelo acúmulo da proteína Bax, cuja degradação pelo proteossoma é inibida pela gentamicina. Além disso, a liberação de catepsinas lisossomais pode clivar caspases ou ativar a proteína Bid, promovendo apoptose. Em ambientes com depleção de ATP, o excesso dessas enzimas leva à proteólise descontrolada e necrose (Gamaan; Zaky; Ahmed, 2023; Quiros *et al.*, 2011).

Outro mecanismo envolve a fosfolipidose, resultado da interação da gentamicina com fosfolipídios de membrana. Essa condição é caracterizada pelo acúmulo anormal de fosfolipídios, especialmente nos lisossomos, comprometendo a atividade de fosfolipases A₁, A₂ e C, enzimas fundamentais para o metabolismo e renovação dos fosfolipídios (Gamaan; Zaky; Ahmed, 2023; Lopez-Novoa *et al.*, 2011; Quiros *et al.*, 2011). Mesmo na ausência de morte celular, a gentamicina pode interferir

significativamente na função tubular ao inibir transportadores essenciais, como a bomba Na^+/K^+ -ATPase. Essa inibição compromete o equilíbrio hidroeletrólítico, afetando a reabsorção de íons e água. Em um curto intervalo de tempo, podem ser observadas alterações como hipercalciúria (aumento da excreção urinária de cálcio) e hipomagnesemia (redução dos níveis de magnésio), mesmo antes do surgimento de lesões estruturais evidentes (Gamaan; Zaky; Ahmed, 2023; Lopez-Novoa *et al.*, 2011).

Embora a principal toxicidade causada pela a gentamicina seja nos túbulos, o glomérulo também sofre alterações, pois é onde ocorre o primeiro contato com o rim, essas alterações incluem em diminuição da TGF e coeficiente de ultrafiltração glomerular (Kf). Isso ocorre, porque a gentamicina faz com que as células mesangiais se contraiam, diminuindo a filtração do sangue. A gentamicina causa a morte e proliferação dessas células, causa esse processo ao mesmo tempo, fazendo com que o número total de células mesangiais não mude muito (Gamaan; Zaky; Ahmed, 2023; Lopez-Novoa *et al.*, 2011). Em altas doses, há alterações morfológicas, discreto aumento de tamanho, perda do formato arredondado; infiltração de neutrófilos e edema difuso da barreira de filtração. Essas alterações são discretas e podem, ou não, afetar a função glomerular (Lopez-Novoa *et al.*, 2011).

O estresse oxidativo causado pela a disfunção mitocondrial, danifica moléculas celulares, incluindo proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, prejudicando assim a função celular e levando à morte celular; contribuem para a contração mesangial e vascular que participam da inflamação (Babaeenezhad *et al.*, 2021; Gumbar *et al.*, 2023).

As espécies reativas do O_2 (EROS) estimulam a produção de citocinas pró-inflamatórias, ativam a enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) aumentando a produção de óxido nítrico (NO). O NO pode interagir com ânion superóxido, e produzir um radical peroxinitrito (ONOO^-) que é extremamente tóxico e contribui para dano celular e a vasoconstrição. As EROS reduz a atividade de enzimas antioxidantes como Catalase (CAT); Superóxido dismutase (SOD); Glutathione (GSH); Glutathione redutase (GR) e Glutathione peroxidase (GPx) (Gumbar *et al.*, 2023; Lopez-Novoa *et al.*, 2011).

A necrose inicial causada pela gentamicina, libera restos celulares que ativam o processo inflamatório, que, iniciado acaba amplificando o dano renal. A inflamação estimula células glomerulares, células mesangiais, podócitos e células epiteliais, células endoteliais e leucócitos residentes e infiltrados. Estes, por sua vez, produzem

citocinas e fatores de crescimento que contribuem para o processo fisiopatológico com diferentes efeitos, incluindo amplificação de danos tubulares (Lopez-Novoa *et al.*, 2011). Dessa forma, a inflamação e o estresse oxidativo estabelecem um elo entre a necrose tubular e a ativação/contração glomerular e vascular, o que, por sua vez, intensifica os danos tubulares, principalmente devido à redução do fluxo sanguíneo renal (FSR).

2.3 Zebrafish Modelo De Lesão Renal

O zebrafish (*Danio rerio*) (Figura 1) é um organismo modelo promissor para pesquisa biomédica, incluindo modelagem de doenças humanas e descoberta de novas drogas terapêuticas, sendo um excelente modelo para estudar o desenvolvimento, fisiopatologia e aspectos moleculares de doenças renais humanas (Cheresiz *et al.*, 2020; Fatma; Nayak; Swain, 2021).

Figura 1- Zebrafish adulto em visão lateral.



Fonte: Autoria própria.

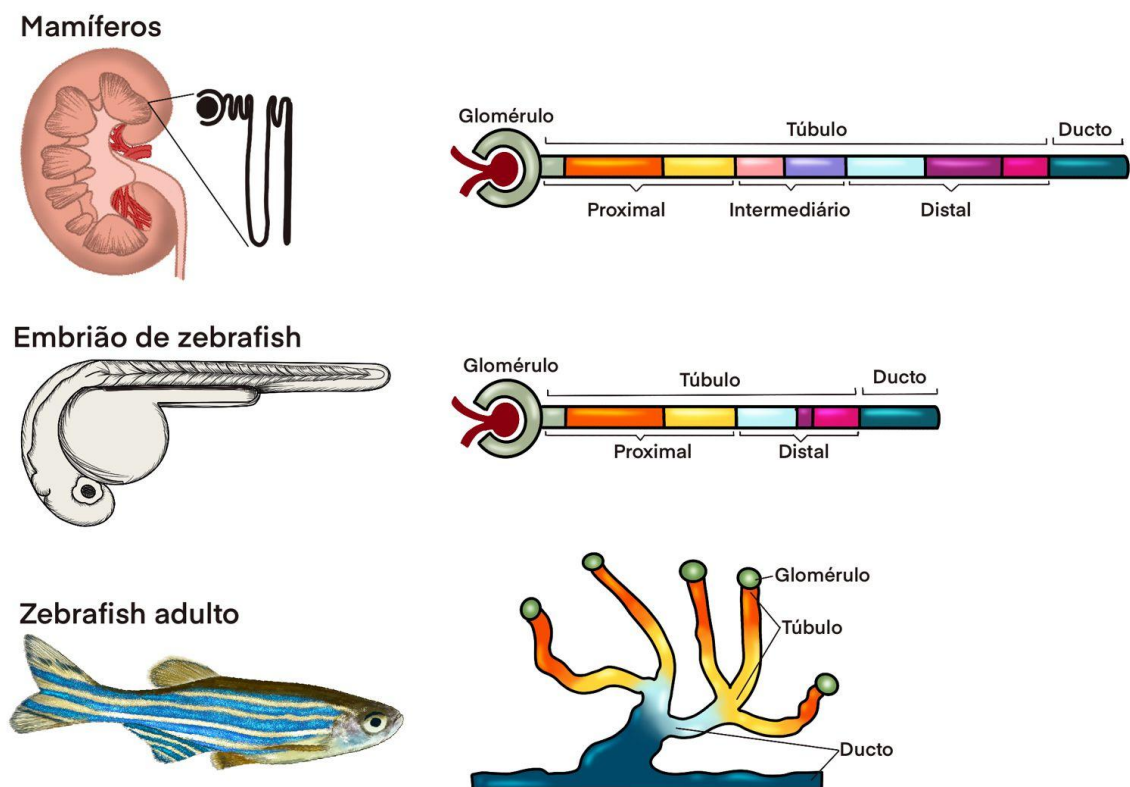
É uma espécie que teve origem na Ásia, tem várias fases de desenvolvimento (embrionário, larval e adulta), sua expectativa de vida é de 4 a 5 anos e mantém sua maturidade sexual por quase toda a vida (Singleman; Holtzman, 2014). Este animal tem 25 pares de cromossomos, aproximadamente 70% dos mesmos genes dos humanos e apresenta homologia genética e fisiológica com estes últimos (Lachowicz *et al.*, 2021; Wang; Copmans; De Witte, 2021). Além disso, possui baixo custo (Zhang, Rui *et al.*, 2021), alta taxa de fecundidade, com um casal podendo colocar 200-300 ovos em uma manhã (Hoo *et al.*, 2016; Lachowicz *et al.*, 2021).

No modelo animal zebrafish é possível estudar tanto a filtração glomerular, a função essencial dos rins realizada no glomérulo, quanto a depuração renal, isto é, a

capacidade do rim de remover substâncias do sangue, uma vez que esse mecanismo é preservado nesse modelo. Isso torna o zebrafish um modelo útil para pesquisas renais (Lim *et al.*, 2022; Outtandy *et al.*, 2019). O rim mais maduro no zebrafish é o mesonefro, já ao dos mamíferos passam por um estágio adicional do desenvolvimento renal e formam o metanefro (Drummond, Bridgette, 2016).

O desenvolvimento do rim do zebrafish (Figura 2) começa com o pronefros, que possui dois néfrons. Eles são encontrados de forma horizontal lateral à bexiga natatória e se dividem estruturalmente em glomérulo, túbulo contorcido proximal, túbulo reto proximal, túbulo anterior distal, túbulo posterior distal e ducto coletor, onde o pronefro termina na cloaca. Conforme o peixe se desenvolve e cresce, a estrutura básica começa a se ramificar, formando o mesonefros. Na fase adulta, o mesonefros é composto por três partes principais: Cabeça, tronco e cauda essas estruturas possuem uma função semelhantes ao córtex e à medula renal encontradas em humanos (Cirio; De Caestecker; Hukriede, 2015; Drummond, Iain A.; Davidson, 2010).

Figura 2 - Comparação esquemática do néfron em mamíferos, embriões e adultos de zebrafish



Fonte: Autoria própria.

Assim como os humanos, o zebrafish apresenta uma membrana de borda em escova bem desenvolvida e expressa receptores de megalina e cubulina localizados no segmento proximal do túbulo contorcido, auxiliando na reabsorção de sais, açúcares e pequenas proteínas (Ottandy *et al.*, 2019). Funcionalmente, o rim do zebrafish possui similaridades com o rim humano, tornando-o um modelo útil para estudar a função e as doenças renais.

2.4 Plantas medicinais

As plantas utilizadas como matéria-prima na fitoterapia são denominadas plantas medicinais (Borkatulla *et al.*, 2023). O uso de plantas medicinais, ervas e arbustos tem sido praticado há séculos na medicina tradicional e popular, com o objetivo de tratar e prevenir diversas doenças (Lordani *et al.*, 2018; Verma *et al.*, 2021). Suas composições fitoquímicas apresentam propriedades terapêuticas úteis no tratamento de doenças específicas ou de grupos de enfermidades. Além disso, esses tratamentos costumam ser mais acessíveis e associados a menor incidência de efeitos adversos, quando comparados aos tratamentos convencionais (Verma *et al.*, 2021).

A fitoterapia, integrada ao conhecimento científico, constitui uma fonte segura e essencial para o tratamento e a prevenção de diversas enfermidades. Seus componentes ativos são extraídos de diferentes partes das plantas, o que possibilita a identificação e caracterização de seus constituintes bioativos (Verma *et al.*, 2021). Embora as plantas medicinais sejam utilizadas nos cuidados à saúde desde a antiguidade, foi apenas na década de 1970 que a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu oficialmente sua importância para a saúde da população (Cherobin *et al.*, 2022).

No Brasil, país detentor da maior biodiversidade do planeta, essa valorização foi consolidada somente em 2006, com a aprovação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que visam estimular a pesquisa e o uso seguro, eficaz e de qualidade dessas plantas pela população (Brasil, 2006; Cherobin *et al.*, 2022).

O Brasil se destaca como uma importante fonte de plantas medicinais, abrigando cerca de 25% de todas as espécies vegetais do mundo (De Souza *et al.*, 2021). Entre as Práticas Integrativas e Complementares oferecidas pelo Sistema

Único de Saúde (SUS), o uso de plantas medicinais e a fitoterapia têm papel de destaque, sendo amplamente adotados, especialmente na Atenção Primária à Saúde (Cherobin *et al.*, 2022). Ademais, a falta de acesso aos serviços de saúde em diversas regiões, especialmente em países em desenvolvimento, também contribui para a busca e o uso de plantas medicinais como alternativa terapêutica (Berhe; Gesesew; Ward, 2024).

Os remédios à base de plantas podem ser utilizada para complemento ou tratamento de doenças renais (Eruotor; Asiwe; Eruotor, 2023), principalmente por conterem compostos naturais com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e nefroprotetoras. Substâncias como a berberina, salidroside, resveratrol, piceatanol, formononetina, puerarina, epigallocatequina galato e capsaicina demonstram efeitos protetores em diversos modelos animais, como nefropatia diabética, lesão renal causada por isquemia/reperfusão toxicidade induzida por cisplatina e danos causados por radiação (Althunibat *et al.*, 2022; Hao *et al.*, 2020; Kanlaya; Thongboonkerd, 2019; Kursunluoglu; Kayali; Taskiran, 2014; Li ; Xing, 2021; Qin *et al.*, 2019; Ran *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2016; Tovar-Palacio; Noriega; Mercado, 2022; Wang, Xiaobo *et al.*, 2022; Zhang, Qi *et al.*, 2020).

Essas substâncias atuam principalmente em células tubulares renais (TECs), podócitos e células mesangiais, reduzindo processos degenerativos e preservando a função renal (Althunibat *et al.*, 2022; Hao *et al.*, 2020; Kanlaya; Thongboonkerd, 2019; Kursunluoglu; Kayali; Taskiran, 2014; Li, Qing; Xing; Yuan, 2021; Qin *et al.*, 2019; Ran *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2016; Tovar-Palacio; Noriega; Mercado, 2022; Wang, Xiaobo *et al.*, 2022; Zhang, Qi *et al.*, 2020). De forma geral, evidências pré-clínicas reforçam que compostos naturais apresentam amplo potencial como agentes protetores e moduladores da função renal.

2.4.1 *Cymbopogon Citratus*

O gênero *Cymbopogon*, apresenta ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e Américas. Composto por 144 espécies, o gênero é amplamente reconhecido por seu elevado teor de óleos essenciais, amplamente empregados na indústria cosmética, farmacêutica e de perfumaria (Avoseh *et al.*, 2015). Suas aplicações incluem o tratamento de problemas estomacais, ação repelente de insetos, atividade antioxidante, uso tópico em cosméticos, tratamento de

condições febris, ação antisséptica, uso como condimento, atividade antimalárica, efeito diurético e até o alívio do reumatismo (Avoseh *et al.*, 2015).

A espécie *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*), popularmente conhecido como capim-limão ou Capim-santo, é uma planta herbácea perene da família Poaceae, amplamente utilizada na medicina popular (Martins *et al.*, 2021; Oladeji *et al.*, 2019). É nativa da Ásia, porém encontra-se amplamente distribuída também na África e nas Américas (Karami *et al.*, 2021).

Possui caules verdes, finos e alongados (Figura 3), acompanhados de um aroma cítrico característico que lhe confere o nome popular. Suas folhas, também verdes, delgadas e alongadas, apresentam formato laminar e contribuem para seu aspecto visual distintivo. A planta libera uma fragrância semelhante à de frutos cítricos, o que a torna amplamente valorizada em aplicações culinárias, na aromaterapia e, especialmente, na medicina tradicional (Rahhal *et al.*, 2024). As aplicações de *C. citratus* incluem a preparação de infusões e decocções utilizadas no tratamento de condições febris e de distúrbios dos sistemas gastrointestinal e nervoso central (Nambiar; Matela, 2010).

Figura 3- Planta *Cymbopogon citratus* (capim-limão).



Fonte: Pixabay (2025)

O seu óleo essencial é rico em compostos bioativos, principalmente citral (geranial e neral), que conferem propriedades como antitérmico, antiinflamatório, antifúngico, antiparasitário, antimicrobiano, antitumoral e antioxidante (Bayala *et al.*,

2018; Boukhatem *et al.*, 2014; Clement; Baksh-Comeau; Seaforth, 2015; Rojas-Armas *et al.*, 2020; Temitayo *et al.*, 2020). O citral reduziu o estresse oxidativo e as citocinas pró-inflamatórias, conferindo assim um efeito protetor contra a carcinogênese induzida por UV-B em camundongos sem pele (Kremer *et al.*, 2019).

O estudo de Kusmardiyani; Alfianti; Fidrianny (2016) utilizou extratos de *C. citratus* obtidos com n-hexano, acetato de etila e etanol, preparados por refluxo com solventes de diferentes polaridades. A atividade antioxidante foi determinada pelos métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e poder antioxidante de redução férrica (FRAP), além de ser avaliada a correlação entre esses resultados e o conteúdo fenólico total (TPC), o conteúdo total de flavonoides (TFC) e o conteúdo total de carotenoides (TCC). Foram calculadas a concentração inibitória 50% (IC₅₀) para o ensaio DPPH e a concentração efetora 50% (EC₅₀) para o método FRAP.

Os resultados demonstraram que os extratos apresentaram atividade antioxidante muito potente pelo método DPPH, sendo os compostos fenólicos os principais responsáveis pela atividade observada tanto nos ensaios DPPH quanto FRAP (Kusmardiyani; Alfianti; Fidrianny, 2016).

Além disso, um dos principais monoterpenos presentes no óleo essencial de *C. citratus* (CCEO), o geraniol, demonstrou capacidade de inibir o canal iônico KV1.3 (canal de potássio dependente de voltagem), com IC₅₀ de 0,5 mM. A expressão desse canal é reconhecida como um fator relevante na fisiopatologia de doenças autoimunes e inflamatórias crônicas (Ye *et al.*, 2019). Diante da diversidade de aplicações terapêuticas e da relevância farmacológica, especialmente do CCEO, torna-se necessário aprofundar o conhecimento sobre seus efeitos biológicos. Assim, o presente estudo avaliou sua ação em um modelo de lesão renal aguda.

3. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

No cenário mundial, a nefrotoxicidade induzida por medicamentos é responsável por aproximadamente 17% a 26% dos casos de LRA, sendo essa proporção ainda maior em países em desenvolvimento. Entre os fármacos mais associados a esse quadro destacam-se os aminoglicosídeos, como a gentamicina, frequentemente relacionados à indução de LRA em pacientes internados em unidades de terapia intensiva, com taxas de mortalidade variando entre 30% e 60% (Yang, Xiaoping *et al.*, 2019).

A ocorrência de LRA é maior em países em desenvolvimento do que em países desenvolvidos (Ponce; Balbi, 2016). Até o momento, não existem terapias específicas para o seu tratamento, e as taxas de morbidade e mortalidade permanecem elevadas. Além disso, a LRA está associada a hospitalizações prolongadas, acarretando significativo impacto econômico para os sistemas de saúde (Alcalde; Kirsztajn, 2018; Kumar, 2018).

O estresse oxidativo é reconhecido como um dos principais mecanismos envolvidos na nefrotoxicidade causada pela gentamicina. Nesse contexto, antioxidantes têm demonstrado elevada eficácia em atenuar o dano renal provocado por esse fármaco (Abdelrahman, 2018; Lopez-Novoa *et al.*, 2011). Assim, o uso de plantas medicinais ou óleos essenciais com propriedades antioxidantes surge como uma estratégia promissora para reduzir tais lesões. O CCEO, que já demonstrou apresentar atividade antioxidante, destaca-se como uma abordagem potencialmente eficaz na proteção contra a nefrotoxicidade induzida pela gentamicina.

A ação protetora dos antioxidantes contra a nefrotoxicidade induzida pela gentamicina ocorre por múltiplos mecanismos: redução da citotoxicidade direta e do estresse oxidativo, como evidenciado pelo estudo com epigallocatequina-3-galato, que restaurou os níveis de GSH e diminuiu o MDA (Yue *et al.*, 2022), inibição da contração de células mesangiais e da vasoconstrição glomerular (Morales *et al.*, 2006), efeito anti-inflamatório, com redução de mediadores como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e NF- κ B (Abukhalil *et al.*, 2025). O uso de antioxidantes e anti-inflamatórios fazem parte de uma das abordagens na prevenção e proteção contra lesão renal (Imig; Ryan, 2013; Tang *et al.*, 2018; Zhang, Beibei *et al.*, 2019).

Apesar de apresentar propriedades antioxidantes promissoras, o CCEO possui constituintes que podem gerar efeitos adversos em doses elevadas. Por isso, é

fundamental investigar sua segurança em modelos experimentais, especialmente quanto ao risco de toxicidade renal (Mesallam *et al.*, 2023). Estudos com *C. citratus* são, portanto, essenciais para definir doses seguras e esclarecer seu real potencial terapêutico frente à LRA.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos tóxicos e antioxidantes do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em zebrafish adultos, considerando parâmetros comportamentais, fisiológicos e bioquímicos, bem como sua capacidade de atenuar a nefrotoxicidade induzida por gentamicina.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar as alterações decorrentes da exposição ao óleo essencial, identificando manifestações clínicas associadas à toxicidade.
- Investigar os efeitos comportamentais do CCEO em zebrafish adultos, analisando possíveis alterações que indiquem toxicidade sistêmica, incluindo nefrotoxicidade, e relacionando o comprometimento fisiológico às respostas comportamentais observadas.
- Fazer análise morfofisiológica dos rins de zebrafish no modelo de LRA.
- Determinar os efeitos bioquímicos do óleo essencial sobre marcadores de estresse oxidativo, correlacionando os achados moleculares com alterações fisiológicas, comportamentais e histológicas.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

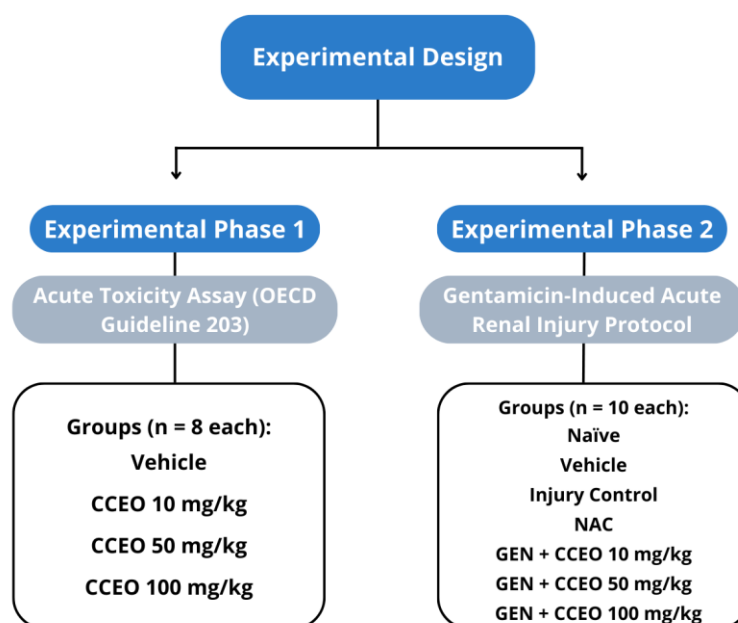
5.1 Local de realização e aspectos éticos

O projeto foi submetido à avaliação do Comitê de Ética no Uso de Animais e aprovado sob o protocolo nº 020/23 (Anexo A). Nos experimentos foram utilizados peixes *Danio rerio* (zebrafish), fêmeas e machos adultos, com idade entre 4 e 10 meses. Respeitando a Resolução Normativa CONCEA nº22/2015 e Lei nº11.794, de 2008, conhecida como Lei Arouca. Os experimentos com os animais e eutanásia ocorreram dentro das dependências do Laboratório Zebrafish na Unichristus campus Benfica. As análises dos materiais biológicos foram realizadas no Laboratório de Toxinologia, do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM-UFC).

5.2 Animais e Grupos amostrais

Para este projeto, foram utilizados 102 zebrafish adultos (ZFa). O estudo foi conduzido em duas etapas. Na primeira etapa, realizou-se a avaliação da toxicidade do CCEO, distribuindo os animais em quatro grupos, cada grupo com 8 animais (Figura 4). Na segunda etapa, foi conduzido o protocolo de lesão renal aguda, composto por sete grupos, cada um contendo 10 animais (Figura 4).

Figura 4- Desenho experimental ilustrando as duas fases do estudo: Fase 1, referente ao ensaio de toxicidade aguda do CCEO conforme a Diretriz OECD 203; e Fase 2, correspondente ao protocolo de lesão renal aguda induzida por gentamicina.



O cálculo do número de animais por grupo foi realizado com auxílio do programa estatístico Piface (Russell V. Lenth, versão 1.76,29 de junho de 2011), complementado pela consulta a literatura da área de estatística (Charan; Kantharia, 2013; Lenth, 2001).

Os animais foram adquiridos da empresa Agroquímica, especializada na criação e comercialização de peixes. Os animais foram mantidos em aquários de vidro, com densidade de 5 ZFa/L, à temperatura constante de 28 °C, sob ciclos de claro-escuro de 14/10 horas. A água utilizada foi proveniente da rede pública (pH entre 7 e 8), previamente tratada com anticloro (ProtecPlus®; 2 gotas/L) e oxigenada por meio de bombas de ar acopladas a filtros submersos.

A troca da água foi realizada de forma parcial ou total a cada 24 horas ou, no máximo, a cada 48 horas. Na troca parcial, pode-se renovar até 70% do volume da água; nas trocas totais, os animais eram geralmente transferidos para outro aquário limpo. Após o período de aclimação, os ZFa foram alimentados com ração à base de Spirulina®, administrada *ad libitum*.

Os utensílios utilizados nos aquários (como redes, termostatos, aeradores, entre outros) foram restritos a cada aquário, a fim de evitar a transmissão de doenças fúngicas e bacterianas. Variações de temperatura, especialmente abaixo de 20 °C, favoreceram a proliferação de fungos (*Saprolegnia sp.*) e protozoários (*Ichthyophthirius multifiliis*). Evitou-se o manuseio brusco dos animais, com o objetivo

de prevenir a perda de escamas, o surgimento de lesões e o acúmulo de material orgânico nos aquários. Os peixes mortos foram prontamente removidos, a fim de evitar a disseminação de agentes infecciosos, e todo o material a ser utilizado foi devidamente higienizado antes do uso.

5.3 Óleo essencial de *Cymbopongo citratus* (CCEO) composição química

O CCEO utilizado neste estudo foi cedido pelo Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob supervisão da Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira. Os exemplares da planta foram coletados no Horto de Plantas Medicinais Francisco José de Abreu Matos (Fortaleza, CE), com identificação botânica confirmada por exsicata (nº 54263), depositada no Herbário Prisco Bezerra (UFC). O óleo foi obtido por hidrodestilação (arraste por vapor d'água) e caracterizado por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), conforme descrito pelo grupo responsável pela extração (Sousa *et al.*, 2025).

O óleo que foi usado nesse projeto possui os seguintes constituintes principalmente (90,88%) pelo monoterpeno citral aldeído, formado por geranial (55,48%) e neral (35,40%). Além disso, possui composição química: nerol (3,49%), betamirceno (3,49%), 6-metil-5-hepten-2-ona (0,46%) e álcool diacetônico (1,68%)(Sousa *et al.*, 2025).

5.4 Delineamento experimental

5.4.1 Avaliação da Toxicidade Aguda segundo a Diretriz OECD 203

Os animais foram expostos ao CCEO nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg, incluindo-se um grupo veículo (solução salina contendo 0,5% de DMSO), e foram avaliados ao longo de 96 horas. O monitoramento dos peixes após a aplicação foi realizado utilizando uma tabela de registro de sinais clínicos (Anexo B), na qual foram anotadas anormalidades relacionadas ao comportamento, aparência e mortalidade. A frequência das avaliações seguiu a recomendação da OECD (2019):

- **1º dia:** duas avaliações diárias;
- **2º e 3º dias:** duas avaliações diárias;
- **4º dia:** uma avaliação diária.

A administração do CCEO foi realizada por via intraperitoneal (i.p.), de acordo

com as doses estabelecidas para cada grupo experimental. Após a aplicação, os peixes foram imediatamente devolvidos aos respectivos tanques de teste, mantidos separados dos demais experimentos. O comportamento dos animais foi acompanhado ao longo de todo o período experimental conforme os procedimentos previamente descritos.

Ao término do período de exposição, os peixes foram submetidos ao Teste de Campo Aberto, conforme descrito por Magalhães et al. (2017), com o objetivo de avaliar a atividade locomotora. A dose letal capaz de causar mortalidade em 50% da população (DL_{50}) foi calculada utilizando o software Quest Graph™ LD50 Calculator, desenvolvido pela AAT Bioquest, Inc.

5.4.2 Protocolo de Lesão Renal Aguda Induzida por Gentamicina

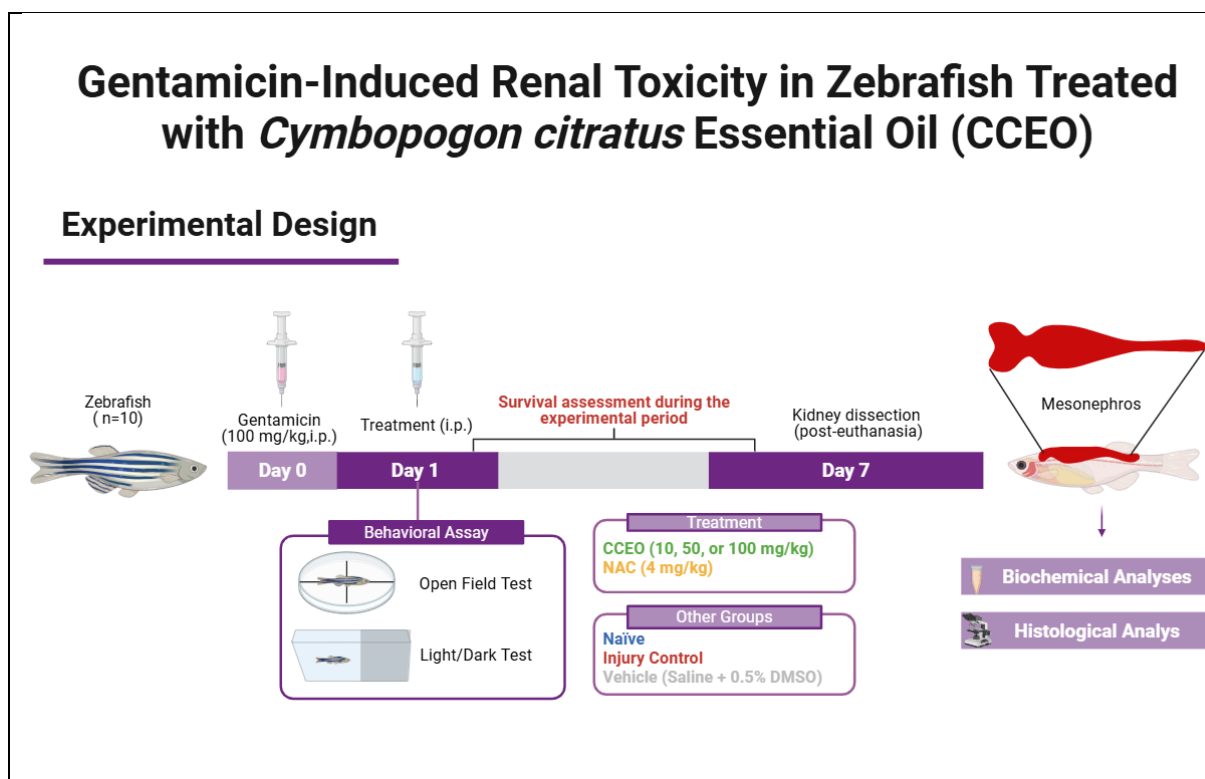
Os animais foram submetidos à dose de 100 mg/kg de gentamicina, considerada adequada para a indução de lesão renal aguda (Kamei; Liu; Drummond, 2015). O protocolo empregado foi adaptado do estudo de Vaishnu Devi e Viswanathan (2019). A gentamicina foi administrada por via i.p. com o objetivo de induzir a lesão renal. Após 24 horas, iniciou-se o tratamento destinado a promover a reversão da injúria, conforme os diferentes grupos experimentais descritos (Quadro 1). Após a administração das substâncias, os animais foram monitorados por 7 dias (Figura 5).

Quadro 1- Organização dos grupos experimentais.

Organization of Experimental Groups		
Experimental Group		Treatment Description
Control Groups	Naïve Control	No intervention
	Vehicle Control	Vehicle – Saline (i.p.), evaluated for 7 days.
	Injury Control	Gentamicin (100 mg/kg, i.p.); evaluated for 7 days.
	Positive Control (NAC 4 mg/kg)	Gentamicin (100 mg/kg, i.p.) + N-acetylcysteine (4 mg/kg, i.p. – 24 h after); evaluated for 7 days.
Treatment Groups	Gen+ CCEO 10 mg/kg	Gentamicin (100 mg/kg, i.p.) + Cymbopogon citratus essential oil (10 mg/kg, i.p. – 24 h after); evaluated for 7 days.
	Gen+ CCEO 50 mg/kg	Gentamicin (100 mg/kg, i.p.) + Cymbopogon citratus essential oil (50 mg/kg, i.p. – 24 h after); evaluated for 7 days.
	Gen+ CCEO 100 mg/kg	Gentamicin (100 mg/kg, i.p.) + Cymbopogon citratus essential oil (100 mg/kg, i.p. – 24 h after); evaluated for 7 days.

Fonte: Autoria própria.

Figura 5– Cronograma do experimento.



Fonte: Autoria própria.

No dia do experimento, os animais dos grupos controle e tratados foram distribuídos individualmente em béqueres de 300 mL contendo 150 mL de água. Em seguida, os animais foram anestesiados por imersão em água resfriada a 10 °C, até atingirem completa imobilidade. Após a anestesia, cada peixe foi transferido para uma esponja úmida, onde recebeu a injeção intraperitoneal de 10 µL das substâncias em estudo. As aplicações foram realizadas com uma seringa de insulina de 0,5 mL (Ultra Fine, BD), acoplada a uma agulha de calibre 30, conforme descrito por Magalhães et al. (2017). Logo após a administração, os peixes foram retornados aos respectivos béqueres e mantidos em recuperação por 30 minutos.

5.5 Avaliação Comportamental

Estudos que estabelecem correlações entre respostas comportamentais e alterações bioquímicas e histológicas são fundamentais para compreender a amplitude dos efeitos do CCEO. Essa abordagem integrada permite não apenas identificar potenciais mecanismos de ação antioxidante e modulador do sistema nervoso central, mas também avaliar a segurança do uso do óleo essencial. Assim, a

análise combinada desses parâmetros auxilia na determinação de doses seguras e eficazes, fornecendo suporte para sua aplicação racional em contextos terapêuticos (Maximino *et al.*, 2010; Mukherjee *et al.*, 2025; Sarasamma *et al.*, 2019).

5.5.1 Teste do campo aberto

Após 30 minutos dos tratamentos, os ZFa foram submetidos ao teste de Campo Aberto para avaliação da atividade locomotora, mensurada pelo número de cruzamentos de linhas (NCL), utilizando placas de Petri de vidro (100 × 15 mm). O comprometimento locomotor induzido pelas substâncias testadas foi avaliado pela contagem dos cruzamentos realizados pelos peixes entre os quadrantes da placa, durante um período de 5 minutos (Figura 6).

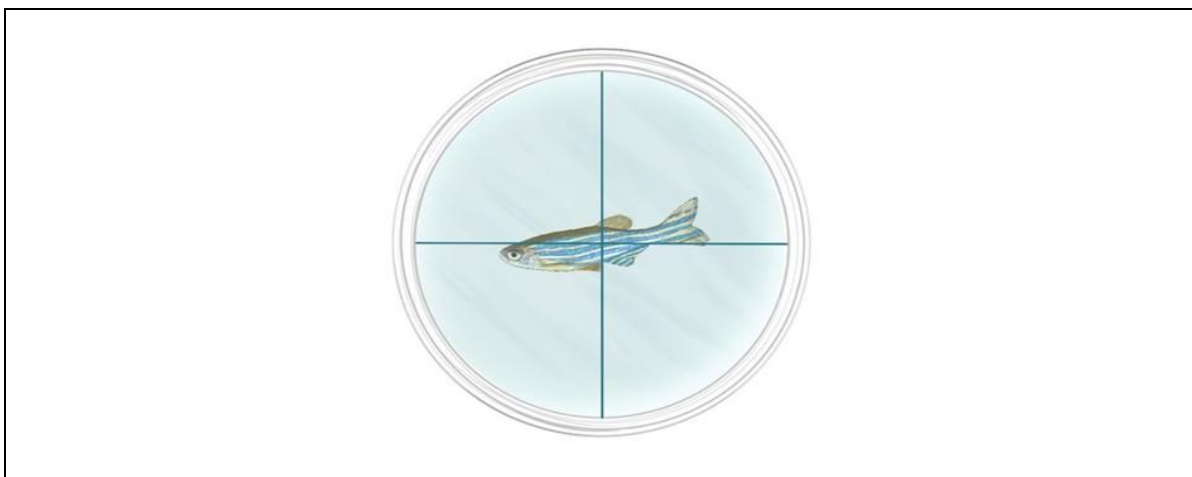


Figura 6 – Campo aberto. Representação do teste de campo aberto, com a área dividida em quadrantes, permitindo a análise de comportamentos locomotores.

Fonte: Autoria própria.

O grupo sem tratamento (Naïve) foi utilizado como *baseline* (100%). A partir desse valor, a porcentagem de NCL para os demais grupos foi calculada conforme descrito por (Tatem *et al.*, 2014):

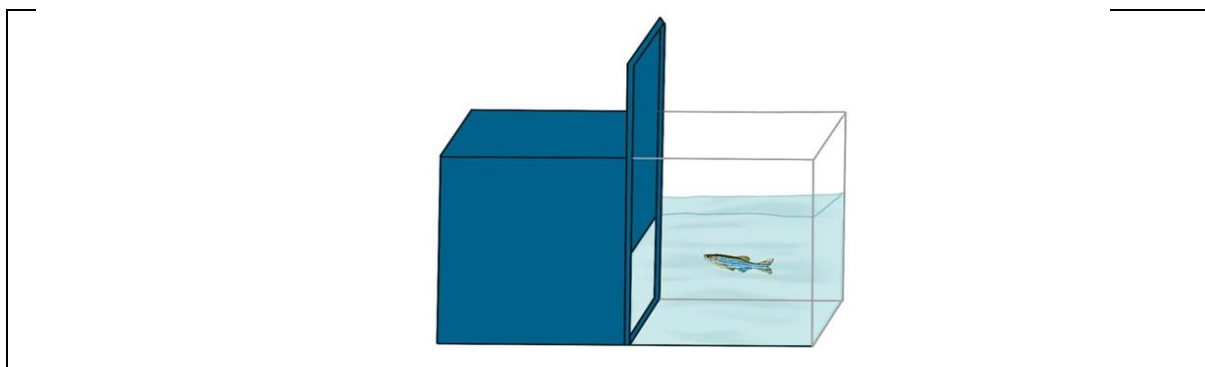
$$\text{NCL\%} = [\text{NCL}(\text{Tratamento})/\text{NCL}(\text{Naïve})] \times 100\%.$$

5.5.1 Teste do claro/escuro

O teste de claro/escuro é utilizado para avaliar os efeitos tóxicos de substâncias no comportamento animal (Fitzgerald *et al.*, 2020). O comportamento nesta tarefa reflete um conflito entre a preferência do animal por áreas protegidas escuras e uma motivação inata para explorar novos ambientes. Passar mais períodos na câmara

escura reflete um aumento do estado de ansiedade/estresse. Assim, essa prática tem como objetivo avaliar o efeito estressor de uma substância teste em ZFa. Após 30 min, os ZFa foram adicionados na zona clara de um aquário de vidro (30 x 15 x 20 cm), dividido em zona clara e escura, com água (3 cm) (Figura 7) (Magalhães *et al.*, 2017).

Figura 7 – Claro/escuro. Representação do teste claro-escuro, com a arena dividida em duas zonas distintas: uma iluminada e outra escura



Fonte: Autoria própria.

5.6 Determinação de parâmetros de estresse oxidativo

Os animais foram previamente anestesiados por imersão em água resfriada a 10 °C e, posteriormente, eutanasiados por decapitação. Logo após o procedimento, os rins foram removidos e colocados em uma placa de Petri mantida sob gelo. Concluída a dissecação, realizada sempre em condições refrigeradas, os rins foram transferidos para microtubos tipo Eppendorf, devidamente rotulados, pesados e conservados a -80 °C até o momento das análises bioquímicas.

5.6.1 Determinação da concentração de glutathiona reduzida

A glutathiona reduzida (GSH) foi utilizada como marcador da capacidade antioxidante endógena. Sua quantificação empregou o reagente de Ellman (DTNB), o qual reage seletivamente com grupos sulfidrilas. Para a análise, os rins foram inicialmente homogenizados em tampão contendo 0,02 M de EDTA e, posteriormente, tratados com ácido tricloroacético a 50% para precipitação de proteínas.

Após centrifugação a 3000 rpm por 15 minutos, o sobrenadante obtido foi reservado para a mensuração da GSH, seguindo o protocolo descrito por Sedlak e Lindsay (1968). Em seguida, as amostras foram misturadas ao tampão tris-HCl 0,4 M (pH 8,9) e ao DTNB 0,01 M. A determinação da concentração de GSH foi realizada por

espectrofotometria, com leitura a 412 nm, utilizando uma curva padrão de glutathione. Os resultados foram expressos em microgramas de GSH por grama de tecido úmido.

5.6.2 Determinação da concentração de nitrito

Com o objetivo de avaliar indiretamente a formação de óxido nítrico, foi determinada a concentração de nitrito nos homogenatos renais. Para isso, as amostras foram centrifugadas a $800 \times g$ por 10 minutos e o sobrenadante resultante foi coletado para posterior análise pelo método colorimétrico de Griess (Green; Tannenbaum; Goldman, 1981; Radenovic; Selakovic, 2005).

A quantificação consistiu na combinação de 100 μL do reagente de Griess com 100 μL do sobrenadante de cada amostra. As reações foram mantidas à temperatura ambiente por 10 minutos, permitindo o desenvolvimento da coloração característica. A curva padrão foi confeccionada a partir de soluções de nitrito de sódio, variando de 0,75 a 100 mM, preparadas nas mesmas condições experimentais. Amostras brancas foram obtidas substituindo o homogenato por tampão. A leitura espectrofotométrica foi realizada em microplacas, a 560 nm, e os valores finais foram expressos em μM de nitrito por grama de tecido.

5.6.3 Avaliação da peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica foi avaliada pela quantificação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos homogenatos de tecido. Para essa determinação, os tecidos foram inicialmente processados em tampão fosfato monobásico de potássio (50 mM, pH 7,4). Em seguida, 63 μL do homogenato foram misturados a 100 μL de ácido perclórico a 35%, e a preparação foi submetida à centrifugação a 7000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante obtido foi então transferido para novos microtubos, aos quais foram adicionados 50 μL de ácido tiobarbitúrico (1,2%). As amostras foram aquecidas em banho-maria a 100 °C por 30 minutos, permitindo a reação entre o TBA e os produtos de oxidação lipídica.

Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi mensurada por meio de leitura espectrofotométrica a 535 nm. Os valores finais foram expressos como μg de MDA por grama de tecido úmido, conforme metodologia proposta por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979).

5.7 Análise Estatísticas

A análise estatística foi conduzida no software GraphPad Prism 8 (San Diego, CA, EUA). Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de Shapiro–Wilk para avaliar a adequação à distribuição normal. Quando os valores apresentaram distribuição normal, aplicou-se a ANOVA de uma via, seguida do teste pós-hoc de Bonferroni. Nos casos em que a normalidade não foi atendida, utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal–Wallis. Diferenças entre grupos foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

6.1 Toxicologia

O teste de toxicologia aguda foi conduzido em zebrafish com o objetivo de avaliar a segurança do CCEO. Cada grupo experimental foi composto por 8 animais. Durante o período de observação, ocorreram mortes em dois grupos: na dose de 50 mg/kg, um animal morreu 5 horas após a administração; na dose de 100 mg/kg, foram registradas três mortes, uma após 24 horas, uma após 48 horas e outra após 96 horas. Nos grupos Vehicle e 10 mg/kg, não foram observadas mortes (Tabela 1). A DL_{50} estimada por Logit: 110 mg/kg (IC 95%: 70,6–149,4). Probit LD_{50} estimada por Probit: 111,2 mg/kg (IC 95%: 66,8–155,6). As estimativas foram obtidas por regressão Logit e Probit; os intervalos de confiança correspondem a 95% (Figura 8).

Tabela 1 – Efeito das diferentes doses de CCEO na mortalidade de zebrafish.

Grupos	Concentração (mg/mL)	Nº de Zebrafish	Nº de mortos	Mortalidade (%)
Vehicle	0 mg/mL	8	0	0%
CCEO 10 mg/Kg	0,5 mg/mL	8	0	0%
CCEO 50 mg/Kg	2,5 mg/mL	8	1	12,5%
CCEO 100 mg/Kg	5 mg/mL	8	3	37,5%

Fonte: Autoria própria.

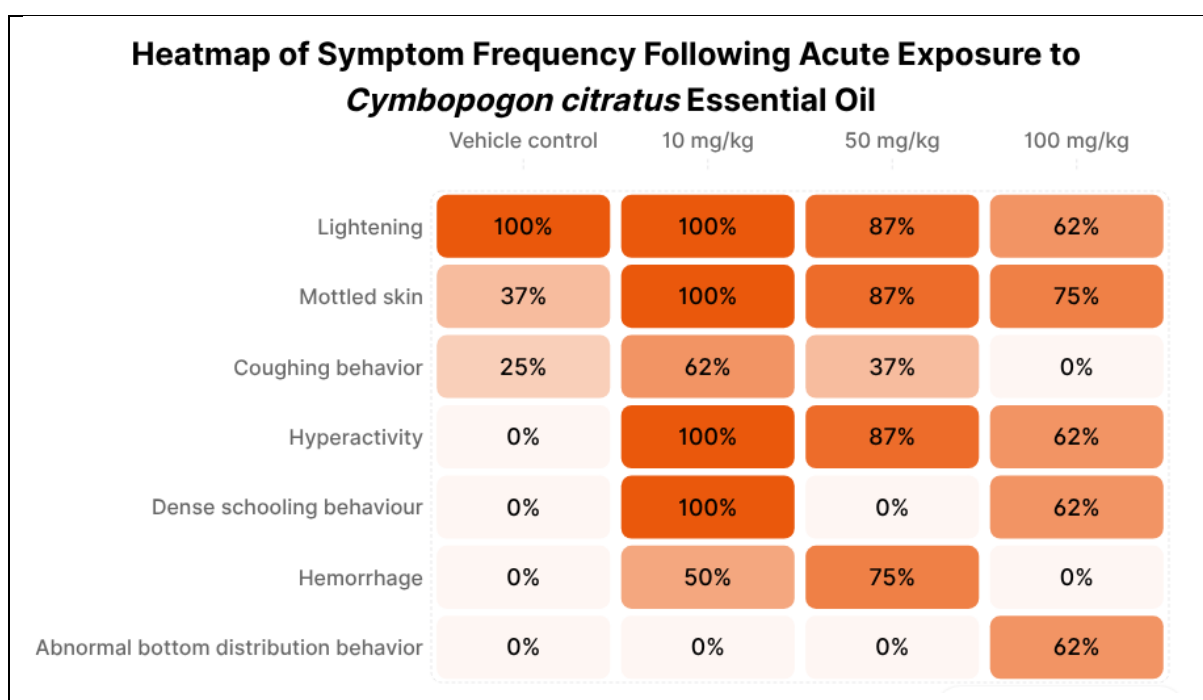
Figura 8 – Equações para Estimar a DL_{50}

Equations for LD ₅₀ Estimation		LD ₅₀ (mg/mL)	Standard Error (SE)	95% CI (mg/mL)
Logit	$\text{logit}(0.5) = 0 = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{DL}_{50}$ $0 = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{DL}_{50}$ $\text{DL}_{50} = -\frac{\beta_0}{\beta_1}$	5.50	1.003	3.53 – 7.47
	$\text{DL}_{50}^{\text{logit}} = -\frac{-2.5225}{0.4537} = 5.50 \text{ mg/mL}$			
Probit	$\Phi^{-1}(0.5) = 0 = \beta_0 + \beta_1 \cdot \text{DL}_{50}$ $\text{DL}_{50} = -\frac{\beta_0}{\beta_1}$	5.56	1.132	3.34 – 7.78
	$\text{DL}_{50}^{\text{probit}} = -\frac{-2.5225}{0.4537} = 5.56 \text{ mg/mL}$			

Fonte: Autoria própria.

Apesar da baixa mortalidade observada nas doses testadas, os animais apresentaram diversos sintomas clínicos (Figura 9). No grupo tratado com CCEO na dose de 10 mg/kg, foram registrados sintomas anormais de pigmentação da pele, como iluminação (100%) e manchas (100%). Esse grupo também apresentou função ventilatória anormal, caracterizada por tosse (62,5%), além de comportamento anormal de natação, como hiperatividade (100%) e formação de escolaridade densa (100%). Outras anormalidades observadas incluíram hemorragia (50%).

Figura 9- Mapa de calor da frequência de sintomas após exposição aguda ao óleo essencial de *Cymbopogon citratus*



Fonte: Autoria própria.

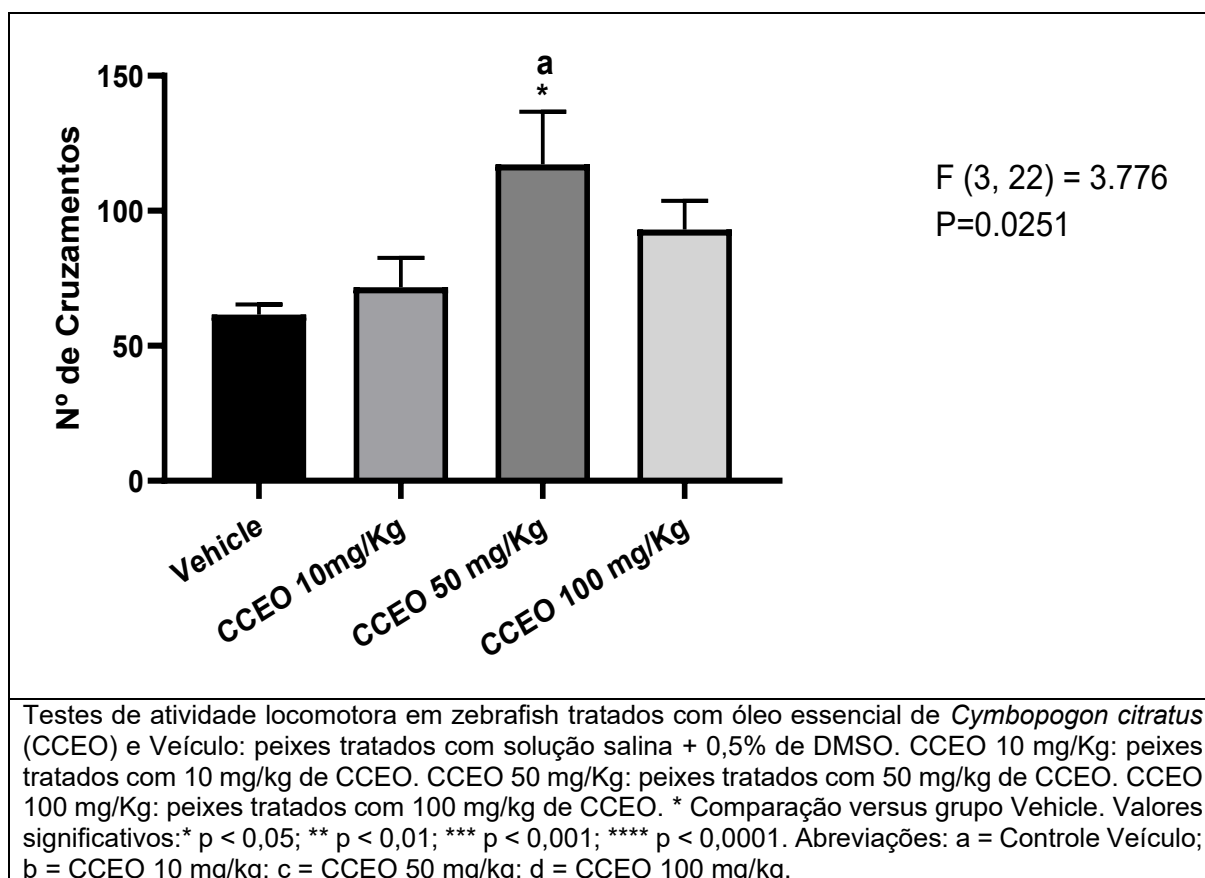
No grupo tratado com a dose de 50 mg/kg, foram observadas alterações semelhantes na pigmentação da pele, com iluminação excessiva (87,5%) e manchas (87,5%). Também foram registrados sintomas de função ventilatória anormal, como tosse (37,5%), e comportamento de natação alterado, como hiperatividade (87,5%). Hemorragias foram observadas em 75% dos animais deste grupo.

Na dose de 100 mg/kg, os animais apresentaram alterações de pigmentação da pele, incluindo iluminação (62,5%) e manchas (75%). Também foram observados comportamentos anormais de natação, como hiperatividade (62,5%), formação de escolaridade densa (62,5%) e comportamento anormal no fundo do aquário (62,5%).

O grupo Vehicle também apresentou algumas alterações, embora em menor intensidade. Foram observadas alterações na pigmentação da pele, como iluminação (100%) e manchas (37,5%). Além disso, 25% dos indivíduos demonstraram tosse.

A atividade locomotora foi avaliada pelo número de cruzamentos no teste de campo aberto (Figura 10). A ANOVA indicou diferença significativa entre os grupos ($F(3,22) = 3,776$; $p = 0,0251$; $R^2 = 0,3399$). O teste de Tukey mostrou que apenas a dose de 50 mg/kg aumentou significativamente a atividade locomotora em relação ao Vehicle (diferença média = -55,58; $p = 0,0270$). As demais comparações não foram significativas ($p > 0,05$).

Figura 10- Avaliação do comportamento locomotor de animais submetidos à administração de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (CCEO).



6.2 Protocolo de Lesão Renal Aguda Induzida por Gentamicina

6.2.1 Comportamento

6.2.1.1 Campo aberto

No teste de campo aberto, utilizado para avaliar a atividade locomotora, não revelou diferença significativa entre os grupos ($P=0,1122$) (Figura 11). O post hoc válida a ausência de diferenças estatísticas entre os grupos ($p > 0,05$).

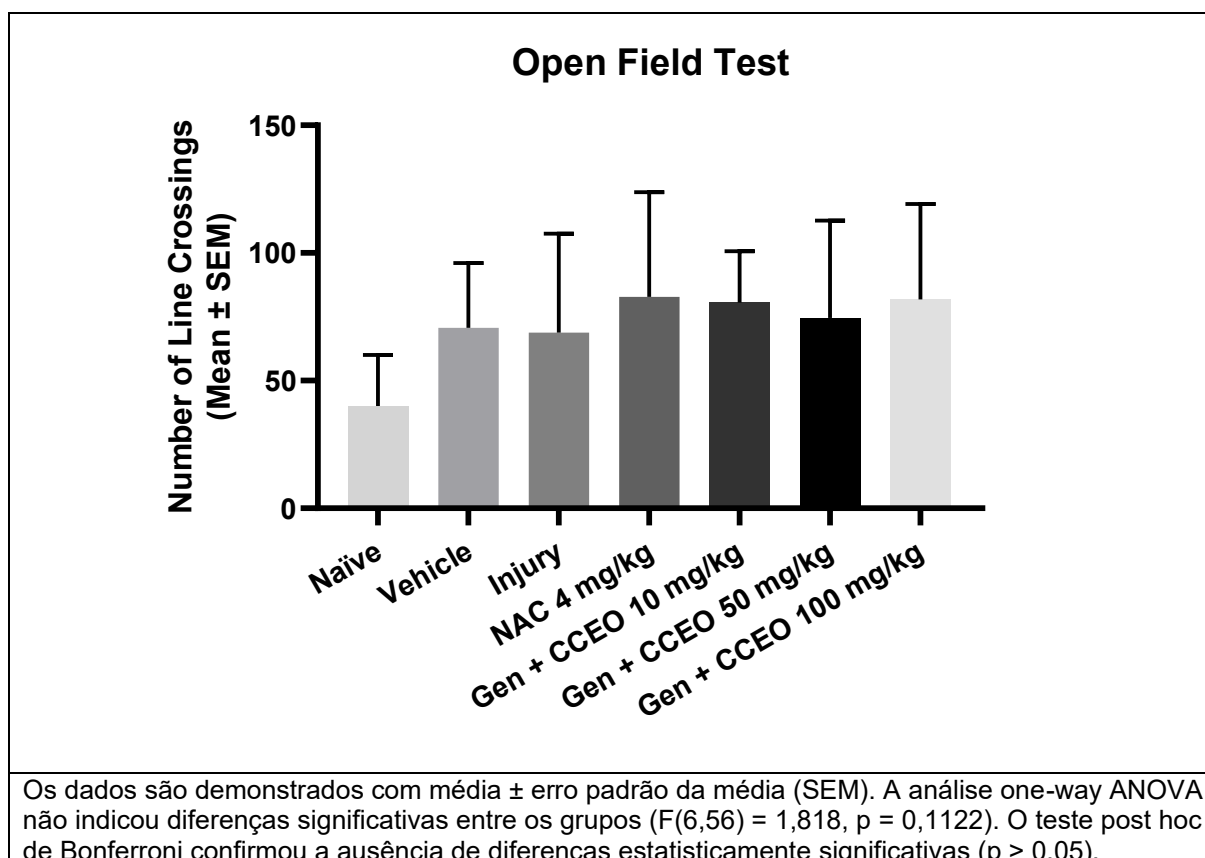
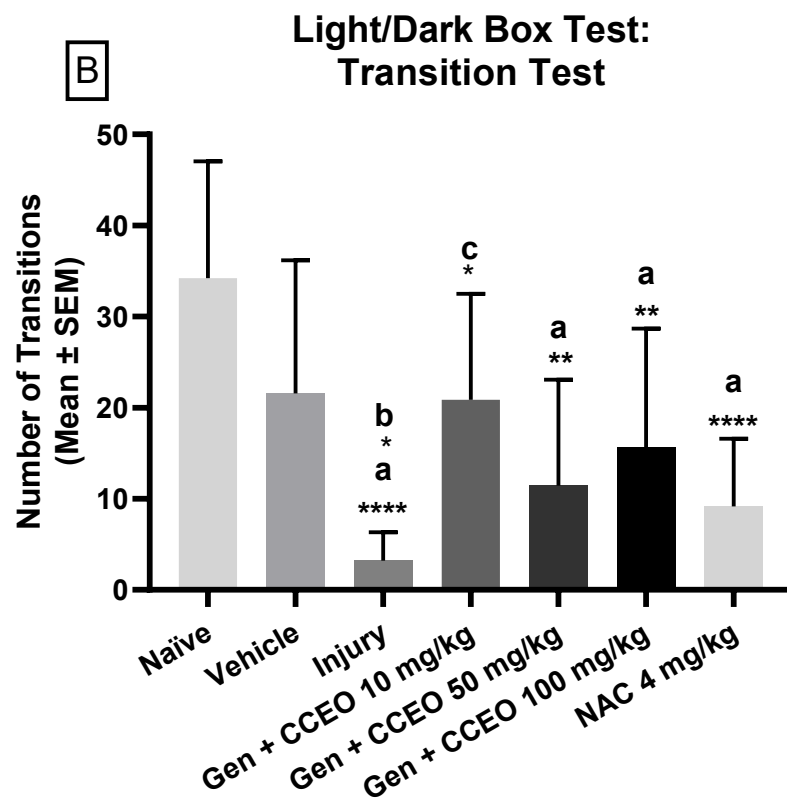
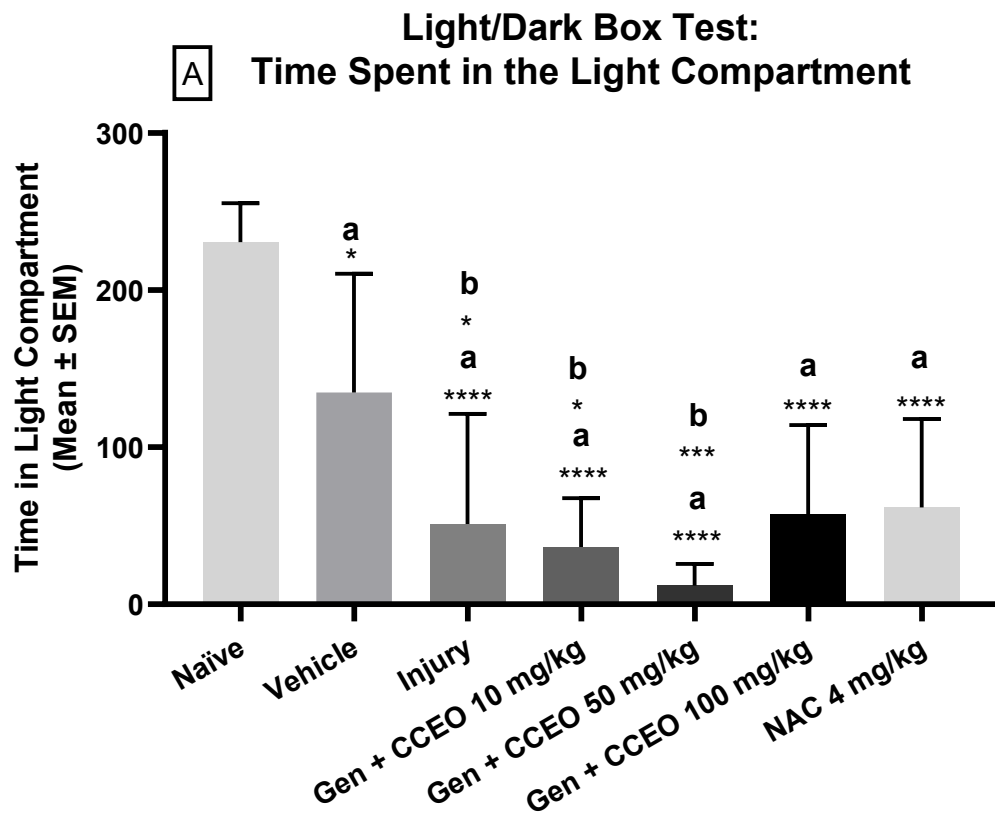


Figura 11- Atividade locomotora no teste de campo aberto em zebrafish LRA induzida por gentamicina e submetidos a diferentes tratamentos.

6.2.1.2 Claro/Escuro

No teste claro/escuro foram avaliados dois parâmetros: o tempo de permanência do animal na zona clara do aparato e o número de transições entre as zonas clara e escura. A análise revelou diferenças significativas entre os grupos no tempo de permanência no compartimento claro ($p < 0,0001$) (Figura 12 A).

Figura 12- (A) Tempo de permanência no claro e (B) número de transições em zebrafish LRA induzida por gentamicina e submetidos a diferentes tratamentos.



(A) Tempo no Claro: Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). As médias foram: Naïve ($230,3 \pm 8,3$), Vehicle ($134,9 \pm 28,5$), Injury ($51,0 \pm 22,2$), NAC 4 mg/kg ($61,6 \pm 16,3$), Gen + CCEO 10 mg/kg ($36,4 \pm 11,0$), Gen + CCEO 50 mg/kg ($11,9 \pm 4,6$) e Gen + CCEO 100 mg/kg ($57,0 \pm 17,2$).

(B) Transições: Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). As médias foram: Naïve ($34,22 \pm 4,27$), Vehicle ($21,56 \pm 4,88$), Injury ($3,22 \pm 1,04$), NAC 4 mg/kg ($9,17 \pm 2,14$), Gen + CCEO 10 mg/kg ($20,88 \pm 4,11$), Gen + CCEO 50 mg/kg ($11,44 \pm 3,88$) e Gen + CCEO 100 mg/kg ($15,64 \pm 3,93$).

A análise post hoc demonstrou que o grupo Naïve permaneceu significativamente mais tempo na zona clara do que todos os demais grupos, incluindo Vehicle ($p = 0,0118$), Injury ($p < 0,0001$), NAC 4 mg/kg ($p < 0,0001$), Gen + CCEO 10 mg/kg ($p < 0,0001$), Gen + CCEO 50 mg/kg ($p < 0,0001$) e Gen + CCEO 100 mg/kg ($p < 0,0001$).

Demostrou também diferença significativa entre os grupos Vehicle e Injury ($p=0,0372$), demonstra que o grupo injury tem menor tempo na zona clara do aparato. O grupo Vehicle também diferiu significativamente de Gen + CCEO 10 mg/kg ($p = 0,0113$) e Gen + CCEO 50 mg/kg ($p = 0,0003$). Não foram observadas diferenças significativas entre Injury, NAC 4 mg/kg, Gen + CCEO 10 mg/kg, Gen + CCEO 50 mg/kg e Gen + CCEO 100 mg/kg ($p > 0,05$).

A análise indicou diferença estatística dos tratamentos, no número de transições entre compartimentos Claro e Escuro ($p < 0,0001$) (Figura 12 B). A análise post hoc demonstrou que grupo Injury apresentou uma redução significativa do número de transições quando comparado ao grupo Naïve ($p < 0,0001$) e Vehicle ($p = 0,0189$), confirmando o efeito lesivo e o comprometimento comportamental. O NAC 4 mg/kg também apresentou uma diferença significativa em relação ao grupo Naïve ($p < 0,0001$).

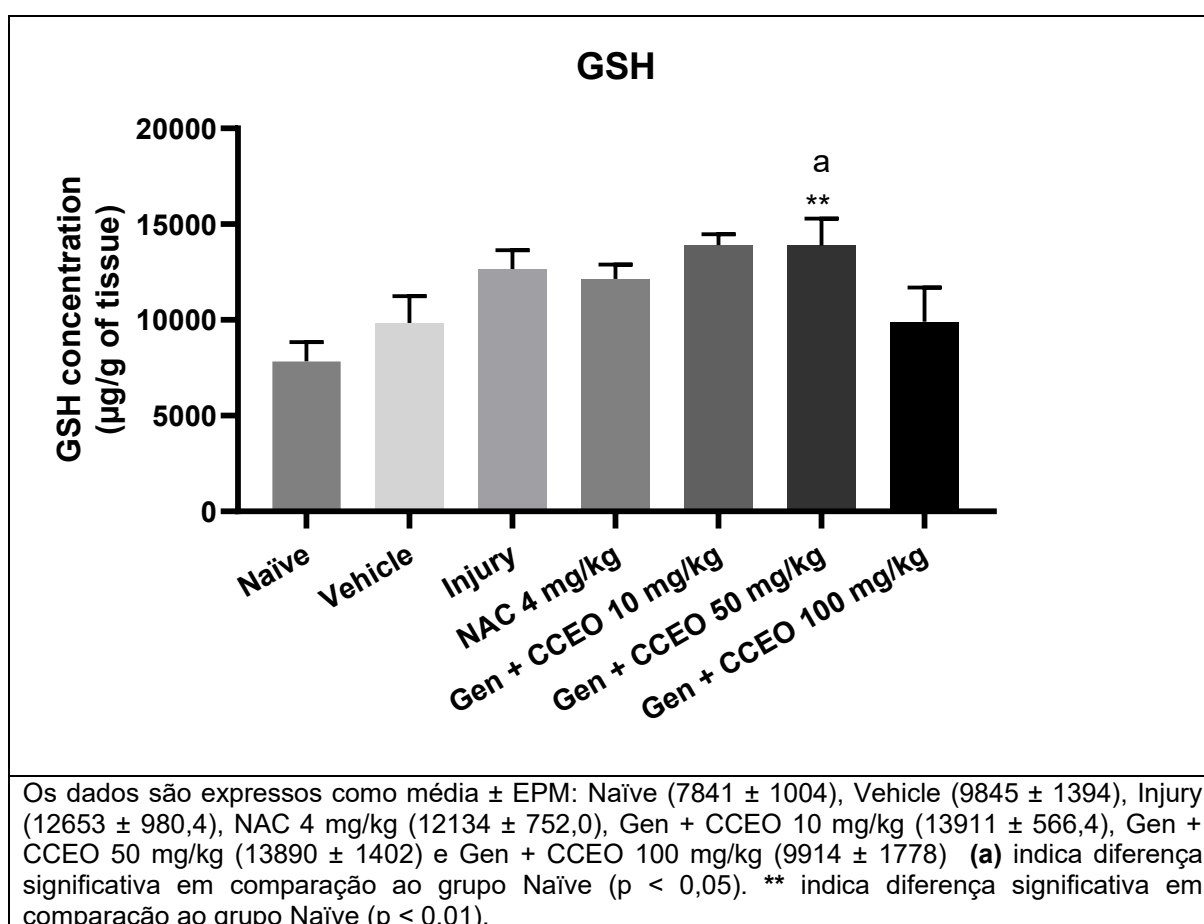
Entre os tratamentos, somente o grupo Gen + CCEO 10 mg/kg obteve melhora significativa do comportamento em relação ao grupo Injury ($p = 0,0382$), indicando efeito protetor sobre as transições Claro/Escuro. As doses 50 mg/kg e 100 mg/kg de Gen + CCEO mostraram ausência significativa quando comparadas ao grupo Injury ($p > 0,05$). Da mesma forma, o tratamento com NAC 4 mg/kg não apresentou diferença significativa em relação ao grupo Injury ($p > 0,05$).

6.2.2 Estresse oxidativo

6.2.2.1 GSH

A análise revelou diferença significativa entre os grupos experimentais para os níveis de GSH ($p = 0,0040$) (Figura 13). post hoc mostrou que apenas o grupo Gen + CCEO 50 mg/kg apresentou diferença significativa em relação ao Naïve, exibindo níveis mais elevados de GSH ($p = 0,0091$). As demais comparações entre o grupo Naïve e os outros tratamentos, Vehicle, Injury, NAC 4 mg/kg, Gen + CCEO 10 mg/kg e Gen + CCEO 100 mg/kg, não alcançaram significância estatística ($p > 0,05$).

Figura 13 – Concentração de GSH ($\mu\text{g/g}$ de tecido) nos diferentes grupos experimentais.



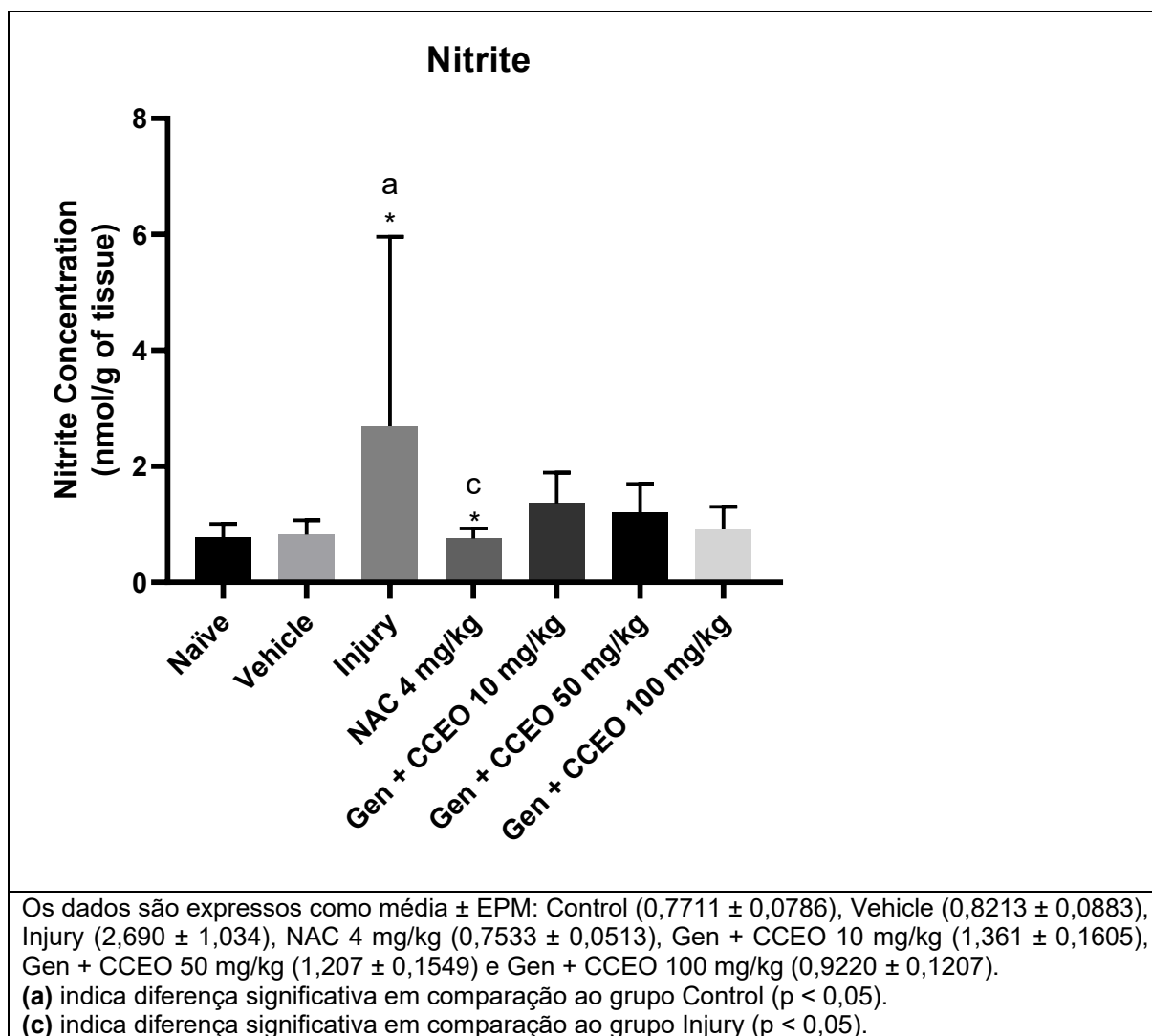
6.3.2 Nitrito

A análise indicou diferença significativa entre os grupos quanto aos níveis de nitrito ($p = 0,0154$) (Figura 14). O post hoc identificou duas comparações estatisticamente significativas. O grupo Injury apresentou níveis de nitrito significativamente maiores que o Naïve ($p = 0,0385$). Além disso, o grupo Injury também diferiu significativamente do grupo NAC 4 mg/kg, exibindo valores mais elevados ($p = 0,0167$).

As demais comparações entre os grupos não mostraram diferenças estatisticamente

significativas ($p > 0,05$), incluindo as comparações entre os grupos tratados com Gen + CCEO e os grupos Naïve, Vehicle ou Injury.

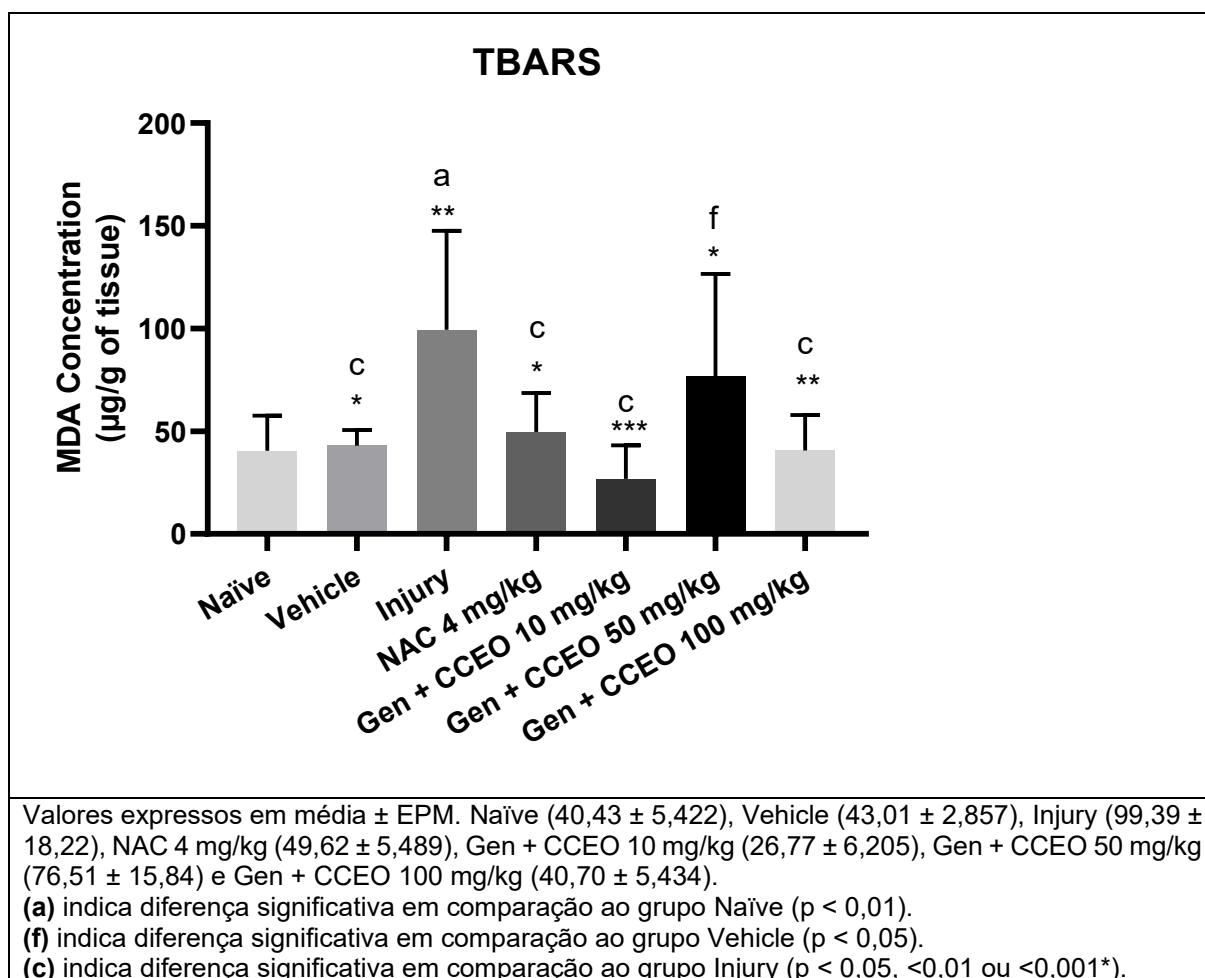
Figura 14 – Concentração de Nitrito (nmol/g de tecido) nos diferentes grupos experimentais.



6.3.3 Tbars

A análise indicou diferença significativa entre os grupos quanto aos níveis de MDA ($p=0,001$) (Figura 15). O post hoc identificou aumento do MDA no grupo Injury em comparação ao grupo Naïve ($p=0,0029$) e Vehicle ($p=0,0137$). Ainda, o grupo injury apresentou aumento significativo em relação aos grupos NAC ($p=0,0150$), Gen + CCEO 10mg/kg ($p= 0,0004$) e Gen + CCEO 100mg/kg ($p= 0,0031$).

Figura 15 – Concentração de MDA ($\mu\text{g/g}$ de tecido) nos diferentes grupos experimentais



Foi observado diferença significativa entre os grupos Gen + CCEO 10mg/kg e Gen + CCEO 50 mg/kg ($p=0,0222$).

7. DISCUSSÃO

A avaliação toxicológica das diferentes doses de CCEO revelou uma dose letal elevada, indicando um perfil de segurança do composto. No entanto, foram observados sintomas clínicos, cuja intensidade e frequência aumentaram de forma proporcional à elevação das doses administradas, caracterizando um padrão de resposta dose-dependente.

Entre os efeitos observados, foram observados alterações na pigmentação da pele, incluindo o aparecimento de manchas e áreas de palidez cutânea (iluminação), sugerindo distúrbios na coloração corporal. A palidez foi observada em todos os grupos experimentais, sendo mais frequente nos grupos Vehicle (100% dos animais), 10 mg/kg (100% dos animais) e 50 mg/kg (87,5% dos animais). No grupo tratado com 100 mg/kg (62,5% dos animais), o sintoma também foi identificado, porém em menor proporção. Essa diferença pode estar relacionada ao maior número de mortes ocorridas nesse grupo, o que resultou em uma amostra reduzida para análise.

A alteração da palidez da pele pode estar relacionada à inibição da enzima tirosinase, essencial na produção de melanina. Essa inibição pode ser induzida tanto pela exposição ao frio, como observado no grupo Vehicle, submetido a temperaturas inferiores a 17°C para anestesia (Kulkeaw *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2024), quanto pela ação do citral, composto presente no CCEO, cuja atividade inibitória sobre a tirosinase já foi descrita na literatura (Capetti *et al.*, 2021; Matsuura; Ukeda; Sawamura, 2006).

Além da palidez, a presença de manchas foi outro achado, registrado em todos os grupos experimentais 10mg/kg (100% dos animais); 50mg/kg (87,5% dos animais); 100mg/kg (75% dos animais), incluindo o grupo Vehicle (37,5% dos animais), embora com menor frequência. Esse achado pode estar associado ao estresse térmico induzido pela exposição dos animais a baixas temperaturas durante o procedimento anestésico (Kulkeaw *et al.*, 2011), bem como à manipulação e aplicação intraperitoneal, fatores conhecidos por desencadear estresse agudo em zebrafish (Kinkel *et al.*, 2010; Ramsay *et al.*, 2009; Salim; Ali, 2011). A agregação de melanócitos, resultado na formação de manchas visíveis, pode ainda ser influenciada pelo citral, de forma semelhante ao observado com outros compostos como álcool e ibogaína (Cachat *et al.*, 2013; Peng *et al.*, 2009).

Os animais apresentaram sintomas de função ventilatória anormal, chamada

de tosse. Caracterizada pela rápida expansão dos opérculos e da boca na água, reflexo associado à tentativa de remoção de substâncias que possam estar obstruindo ou irritando as brânquias (Hoffman; Taylor; Harris, 2016; Liang *et al.*, 2023).

A frequência mais elevada ocorreu na dose de 10 mg/kg (62,5% dos animais), sugerindo que a exposição inicial ao CCEO, provavelmente em função da presença de citral e outros compostos voláteis, induz irritação aguda das brânquias ou epitélio respiratório, além de poder causar depressão respiratória (Barbas *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019). Na dose de 50 mg/kg (37,5% dos animais), esse efeito foi menos pronunciado, e, na dose de 100 mg/kg, o sintoma esteve ausente, possivelmente devido à presença de sintomas mais severos que suprimiram a resposta comportamental devido a uma depressão respiratória (Ribeiro-Filho *et al.*, 2016).

No grupo vehicle, a baixa incidência (25% dos animais) pode ser atribuída a fatores ambientais ou estresse leve por manuseio (Kinkel *et al.*, 2010; Ramsay *et al.*, 2009; Salim; Ali, 2011). Esse perfil sugere um padrão não-linear, com predomínio do sintoma em doses baixas, seguido por supressão nas doses tóxicas, o que é compatível com a literatura sobre efeitos respiratórios iniciais induzidos por substâncias em peixes (Barbas *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019).

O sintoma de hiperatividade não foi observado no grupo vehicle e, o que sugere uma relação que está associada à administração do composto testado. No grupo tratado com 10 mg/kg, 100% dos animais apresentaram esse comportamento; no grupo de 50 mg/kg, a ocorrência foi de 87%; e, no grupo de 100 mg/kg, de 62,5%. Esse perfil de resposta inversamente proporcional à dose, conhecido como efeito dose-resposta reverso, já foi descrito na literatura em estudos com outras substâncias em zebrafish adultos (Guo *et al.*, 2015; Hussain *et al.*, 2020; Irons *et al.*, 2010).

Esse tipo de resposta comportamental em baixas doses está relacionado à estimulação do sistema nervoso central, promovendo o aumento na liberação de neurotransmissores. Em contrapartida, em doses mais elevadas, a mesma substância pode exercer um efeito inibitório sobre a atividade excitatória, reduzindo a manifestação de comportamentos estimulados (Khan *et al.*, 2017; Müller *et al.*, 2020).

O comportamento de escolaridade densa, também conhecido como *schooling behavior*, é um padrão natural dos peixes, no qual os indivíduos formam cardumes organizados, mantendo uma distância constante entre si. Esse comportamento oferece diversos benefícios ao grupo, como a redução do risco de predação, maior eficiência na busca por alimento e melhora na comunicação social (Miller; Gerlai,

2012; Ogi *et al.*, 2021). Por outro lado, a escolaridade densa, avaliada no presente estudo, refere-se a uma organização extremamente compacta dos indivíduos, com redução significativa da distância entre eles. Esse padrão é frequentemente associado a estados de ansiedade, medo ou resposta a estressores ambientais, como a exposição a substâncias tóxicas (Hamilton *et al.*, 2021; Rosa *et al.*, 2020).

O comportamento de escolaridade densa foi observado nas doses de 10 mg/kg (100% dos animais) e 100 mg/kg (62,5% dos animais), estando ausente na dose intermediária de 50 mg/kg e no grupo vehicle. Esses resultados sugerem um perfil de resposta bifásica do CCEO (Hamilton *et al.*, 2021), em que doses baixas induzem estresse (Da Silva *et al.*, 2023), enquanto a dose intermediária promove um efeito ansiolítico (Umukoro; Ben-Azu; Iyiola; *et al.*, 2020).

O sintoma de hemorragia avaliado neste teste foi caracterizado pela presença de petéquias (manchas puntiformes do tamanho de uma cabeça de alfinete) e/ou hematomas (áreas de coleta de sangue), resultantes de sangramentos intradérmicos ou em mucosas (OECD, 2019). Esses sinais foram observados nos grupos tratados com as doses de 10 mg/kg (50% dos animais) e 50 mg/kg (75% dos animais), estando ausentes no grupo vehicle e no grupo tratado com 100 mg/kg.

A presença desses sintomas pode indicar toxicidade associada à lesão endotelial ou a uma inflamação vascular leve, que resulta em extravasamento de sangue, manifestando-se como petéquias ou hematomas. Contudo, não foram encontrados estudos que descrevam hemorragias cutâneas diretamente induzidas pelo CCEO ou pelo citral constituinte majoritário. Na literatura relata efeitos vasorrelaxantes, ações citoprotetoras sobre células endoteliais exposta ao estresse oxidativo e alterações na fragilidade osmótica de hemácias, o que indica interação com componentes vasculares e hematológicos (Devi; Sim; Ismail, 2012; Mendes Hacke *et al.*, 2022; Safaeian *et al.*, 2020).

Embora tais achados não correspondam a evidência direta de hemorragia, sugerem que mecanismos envolvendo o endotélio, a reatividade vascular ou as células sanguíneas podem contribuir para os sinais observados.

O comportamento na zona inferior do aquário em zebrafish é amplamente estudado como um indicador de ansiedade, alterações motoras ou resposta a fármacos/toxinas (Baiafonte *et al.*, 2016; Johnson *et al.*, 2023; Li, Xiao-hong *et al.*, 2025). Esse padrão comportamental foi observado no grupo tratado com a dose de 100 mg/kg (62,5% dos animais) de *Cymbopogon citratus*, sendo ausente nas demais

doses e no grupo vehicle. Esse achado sugere um possível efeito adverso dose-dependente, com impacto em circuitos neuromotores ou centrais responsáveis pela regulação do comportamento locomotor e postural (OECD, 2019).

Durante o período de observação, também foram registradas mortes relacionadas à exposição. Na dose de 50 mg/kg, um animal morreu 5 horas após a administração. Na dose de 100 mg/kg, foram observadas três mortes, ocorridas de forma escalonada: após 24, 48 e 96 horas. Esses dados indicam que a toxicidade do composto é acentuada em doses mais elevadas, tanto em termos de manifestações clínicas quanto de letalidade.

Na avaliação locomotora, a dose de 50 mg/kg promoveu um aumento significativo na atividade dos animais em comparação ao grupo vehicle, o que pode indicar um possível efeito ansiolítico induzido pelo composto (Hajizadeh Moghaddam; Mashayekhpour; Tabari, 2023). As demais doses não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, o que sugere a ausência de comprometimento motor ou efeito sedativo. É importante destacar que essa avaliação foi realizada 30 minutos após a administração do óleo essencial, com o objetivo de detectar efeitos comportamentais agudos, diferentemente das demais análises, que observaram os animais por um período de 96 horas.

Tais achados reforçam o potencial tóxico do óleo, evidenciado pelo conjunto de alterações comportamentais, fisiológicas e pela progressão de óbitos ao longo do tempo. A ocorrência de óbitos em diferentes momentos após a exposição sugere um efeito tóxico cumulativo ou de ação prolongada, o que destaca a necessidade de cautela na utilização do composto em concentrações mais altas, sobretudo em contextos terapêuticos ou experimentais.

Nos parâmetros comportamentais avaliados no teste de campo aberto para os grupos submetidos ao protocolo de LRA induzida por gentamicina, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Dessa forma, o óleo essencial não promoveu alterações relevantes na atividade locomotora dos animais com LRA, indicando que o efeito do composto não está associado a mudanças no comportamento motor basal.

De forma semelhante, outro estudo também evidenciou o efeito do CCEO, demonstrando ação ansiolítica e promotora da atividade exploratória em ratos. Nesse caso, os animais tratados apresentaram maior locomoção e menor ansiedade no teste de campo aberto, comportamento comparável ao observado no Naïve. Além disso,

quando administrado após a exposição ao cloreto de alumínio, o óleo foi capaz de atenuar os déficits locomotores e exploratórios, reduzindo ainda os sinais de ansiedade (Temitayo *et al.*, 2020).

Embora *C. Citratus* apresente efeitos comportamentais em situações de estresse ou depleção neuroquímica, o estudo de (Umukoro *et al.*, 2017), demonstrou que o extrato não estimula a atividade motora espontânea em camundongos normais, ou seja, em condições basais. Esse achado se assemelha aos resultados do presente estudo, no qual, nas doses avaliadas, o *C. Citratus* não exerceu efeito estimulante, mantendo o padrão locomotor semelhante ao do grupo Naïve. Tal evidência é relevante, pois indica que o possível efeito protetor do CCEO. Sobre a lesão renal não está associado a alterações inespecíficas no comportamento motor, reduzindo o risco de vieses interpretativos relacionados à sedação ou hiperatividade.

No teste claro/escuro, observou-se que o grupo Injury apresentou redução do tempo de permanência na zona clara em comparação aos grupos Naïve e Vehicle. Esse comportamento indica um possível aumento da aversão ao ambiente iluminado, sugerindo maior nível de ansiedade ou desconforto nos animais submetidos à lesão (Dutra Costa *et al.*, 2020).

Esse achado é consistente com o estudo de Amir *et al.* (2024), que investigou a nefrotoxicidade induzida por gentamicina (100 mg/kg) em ratos Wistar machos, também foi relatada uma diminuição significativa no tempo gasto no compartimento claro no grupo tratado com gentamicina, quando comparado ao grupo controle.

O grupo Injury também apresentou uma redução significativa no número de transições entre as zonas, o que indica prejuízo na atividade exploratória dos animais. Esse resultado sugere que o antibiótico comprometeu a locomoção espontânea e a motivação exploratória (Takao;e Miyakawa, 2006). O contexto deste estudo, esse comportamento pode estar relacionado ao processo inflamatório desencadeado pelo uso do antibiótico (Carregosa *et al.*, 2024).

O tratamento com NAC alterou o tempo de permanência no compartimento claro. Em contraste, a literatura descreve efeitos ansiolíticos do NAC no teste claro/escuro, uma vez que, geralmente, essa substância aumenta o tempo no compartimento claro ou restaura a exploração dessa zona em animais submetidos a estressores (Santos *et al.*, 2017). Somado a isso, o NAC apresenta efeitos renoprotetores em modelos de LRA induzida por gentamicina, sugerindo que pode reverter alterações comportamentais associadas à lesão (Cui *et al.*, 2019). No entanto,

sua eficácia pode variar conforme a dose, a via de administração e a fase da lesão (Emara *et al.*, 2025; Tenório *et al.*, 2021).

O NAC acentuou a redução no número de transições, em comparação ao grupo Naïve, sugerindo um efeito de diminuição da atividade exploratória. Esse achado pode estar associado a um padrão de resposta dose-dependente já descrito na literatura (Ikram *et al.*, 2024). Assim, embora a NAC apresente reconhecidos efeitos protetores em modelos de estresse oxidativo, seus impactos sobre o comportamento motor devem ser considerados, uma vez que, dependendo da dose, pode exercer efeito sedativo.

O tratamento com CCEO promoveu, de forma geral, uma redução significativa no tempo de permanência no compartimento claro, sugerindo um possível aumento do comportamento ansioso em relação ao grupo Naïve. As doses de 10 mg/kg e 50 mg/kg reduziram significativamente esse parâmetro quando comparadas aos grupos Vehicle e Naïve, enquanto a dose de 100 mg/kg apresentou redução significativa apenas em relação ao grupo Naïve. Em relação ao número de transições, as doses de 100 mg/kg e 50 mg/kg de CCEO reduziram esse parâmetro em comparação ao grupo Naïve.

Esse efeito pode estar relacionado à inflamação induzida pela gentamicina (Carregosa *et al.*, 2024), uma vez que o processo inflamatório está associado ao aumento de sintomas ansiogênicos e à redução da atividade locomotora. Nessa dose, o efeito do CCEO não se mostrou tão eficaz quanto em outras concentrações, o que está de acordo com relatos da literatura que indicam variação na eficácia em função da dose (Mendes Hacke *et al.*, 2020).

Por outro lado, na dose de 10 mg/kg (Gen + CCEO) o tratamento com o óleo aumentou significativamente o número de transições em comparação ao grupo tratado apenas com gentamicina (Injury), indicando maior atividade exploratória nesse grupo.

O óleo pode ter atenuado os efeitos induzidos pela gentamicina. Seus compostos majoritários, como o citral, apresentam propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias capazes de reduzir o estresse oxidativo e a inflamação sistêmica desencadeados pela gentamicina. Esses processos fisiopatológicos estão diretamente associados ao comprometimento do comportamento locomotor e exploratório dos animais (Carregosa *et al.*, 2024; Mendes Hacke *et al.*, 2020).

Para aprofundar essa elucidação, estudos adicionais são essenciais para confirmar os achados. A realização do teste *Novel Tank* para avaliar alterações na

locomoção e na exploração, bem como de testes comportamentais voltados à avaliação de dor neuropática. Além disso, a dosagem de citocinas pró-inflamatórias pode contribuir para caracterizar a resposta inflamatória sistêmica e central.

De forma geral, os resultados indicam que a lesão reduz de maneira marcante o número de transições Claro/Escuro, enquanto o tratamento Gen + CCEO 10 mg/kg apresentou o melhor desempenho na restauração do comportamento, aproximando-se dos níveis observados no grupo Vehicle.

Em conjunto, os resultados deste estudo demonstram que a gentamicina compromete de forma significativa o comportamento locomotor e exploratório dos animais, possivelmente em decorrência de processos inflamatórios e oxidativos associados à sua toxicidade. Embora o NAC e o CCEO tenham apresentado efeitos moduladores, suas respostas variaram de acordo com a dose, sugerindo perfis farmacológicos distintos e dependentes de dose utilizada.

A combinação gentamicina + CCEO na dose de 10 mg/kg promoveu melhora parcial na atividade exploratória, indicando um potencial efeito protetor nessa faixa de dose. Assim, os achados reforçam a relevância de investigar os mecanismos subjacentes a essas respostas, especialmente aqueles relacionados à inflamação e ao comportamento serão fundamentais para confirmar essas observações e delinear com maior precisão o potencial terapêutico do CCEO frente à toxicidade induzida pela gentamicina.

Além disso, evidências da literatura apontam que a redução do estresse oxidativo, refletida pela diminuição de MDA e nitrito, aumento de glutathione e restauração da atividade de enzimas antioxidantes, está associada à melhora de parâmetros comportamentais, incluindo locomoção e exploração, em modelos de estresse ou toxicidade (Temitayo *et al.*, 2020; Umukoro; Ben-Azu; Ajayi; *et al.*, 2020; Umukoro; Ben-Azu; Iyiola; *et al.*, 2020).

O estresse oxidativo desempenha um papel central na fisiopatologia da LRA por gentamicina, uma vez que as EROs e ERNs promovem peroxidação lipídica, dano mitocondrial e na ativação de vias pró-apoptóticas, contribuindo para necrose tubular e redução da taxa de filtração glomerular (Cumaoglu *et al.*, 2024). Em consonância, observou-se ausência de significância dos níveis de GSH em animais tratados com gentamicina em comparação ao grupo Naïve. Embora a diferença não tenha alcançado significância pode estar associada a diferentes fatores, como tempo de exposição ao fármaco, variabilidade biológica ou resposta compensatórios,

parcialmente restaurador da GSH (Ali; Gayoum; Bashir, 1992; Banday *et al.*, 2008).

Assim, embora o grupo Injury não tenha apresentado a tendência esperada de redução do GSH, a ausência de significância não invalida o modelo experimental, mas reforça a importância de avaliar diferentes tempos de exposição, ampliar o tamanho amostral e incluir outros marcadores de estresse oxidativo como Razão glutatona reduzida/oxidada (GSH/GSSG) e glutatona peroxidase (GPx), para obter uma compreensão mais abrangente do dano renal induzido pela gentamicina.

A redução de GSH é descrita como um marcador precoce de toxicidade renal, refletindo estresse oxidativo, morte celular e desequilíbrio da atividade antioxidante induzidos pela gentamicina (Albukhari *et al.*, 2025; Balaha *et al.*, 2023; Dong *et al.*, 2023; Yue *et al.*, 2022). O efeito protetor do CCEO. pode estar relacionado ao seu alto teor de citral (geranial 55,48% + neral 35,40%), capaz de ativar a via antioxidante do fator nuclear Nrf2 (Fator nuclear-eritroide 2 relacionado ao fator 2), prevenindo lesões celulares e teciduais (Ka *et al.*, 2015; Yang, Shun-Min *et al.*, 2013), esse mecanismo é consistente com estudos prévios, como Hacke *et al.* (2021), que relataram aumento de GSH após administração do óleo essencial, e Umukoro, Ben-Azu, Ajayi *et al.* (2020), reforçando seu potencial antioxidante em diferentes modelos experimentais.

No presente estudo, apenas a dose intermediária (50 mg/kg) promoveu aumento significativo de GSH em comparação ao Naïve, sugerindo que essa concentração foi suficiente para ativar a via Nrf2 e, conseqüentemente, aumentar a síntese de glutatona. Esse padrão é compatível com um perfil bifásico ou hormético, frequentemente observado em óleos essenciais e em compostos bioativos de plantas. Resultados semelhantes já foram descritos tanto para o óleo (Boukhatem *et al.*, 2014) quanto para o citral isolado (Yang, Shun-Min *et al.*, 2013).

Adicionalmente, diferentes constituintes do óleo podem interagir de forma sinérgica ou antagonista dependendo da concentração, influenciando a eficácia em cada dose (Papanastasiou *et al.*, 2017). Fatores farmacocinéticos também podem contribuir para esse comportamento, variabilidade biológica entre os animais e até mesmo o tamanho amostral, o que pode ter limitado a detecção de efeitos significativos nas outras doses (Calabrese *et al.*, 2024; Papanastasiou *et al.*, 2017; Scalerandi *et al.*, 2018).

O tratamento com NAC, um antioxidante clássico e precursor direto da síntese de GSH (Raghu *et al.*, 2021), não diferiu significativamente do grupo Naïve. A eficácia

da NAC também depende da dose e da duração do tratamento, como demonstrado por Montero et al. (2023) demonstraram que doses baixas administradas de forma crônica exercem efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios sustentados, enquanto estratégias agudas com doses elevadas resultaram em respostas distintas.

Dados farmacocinéticos corroboram essa variabilidade: Nolin et al. (2010), observaram que doses orais repetidas de 1200 mg duas vezes ao dia elevam significativamente a concentração plasmática máxima (C_{max}) e a exposição total em comparação com doses menores (600 mg), especialmente em indivíduos com clearance renal reduzido. De forma semelhante, em um modelo de neuropatia periférica diabética, altas doses de NAC (2400 mg/dia, por três meses) promoveram melhora em marcadores antioxidantes (NRF2, GPx), redução da inflamação (TNF- α) e ganhos de qualidade de vida (Emara *et al.*, 2025). Esses achados reforçam o potencial da NAC como controle positivo, validando o modelo experimental aqui empregado.

Outro Marcado de estresse oxidativo que avaliamos nesse estudo foi o nitrito, por refletir a produção e o metabolismo do óxido nítrico (NO). Em excesso ou em desequilíbrio com as espécies reativas de oxigênio (EROs), esse mediador contribui para danos oxidativos/nitrosativos nas células (Jensen, 2009).

O grupo injury promoveu aumento dos níveis de NO em relação ao grupo Naïve. Esse resultado sugere que, no modelo experimental adotado, a droga exerce um efeito pró-oxidante, favorecendo a indução de NO e contribuindo para o desequilíbrio nitrosativo.

Achados semelhantes são descritos na literatura. No estudo de Nakaš-Ićindić et al. (2005), ratos tratados com gentamicina por 5 dias (80 mg/kg/dia, i.p.) apresentaram aumento nos níveis de nitrito, validado pela quantificação tecidual, associado à lesão renal aguda. De forma semelhante, Morsy et al. (2014), observaram que a administração de gentamicina (100 mg/kg/dia, i.p.) por 6 dias também levou ao aumento dos níveis renais de nitrito/nitrato. Esses dados indicam que a duração do tratamento está diretamente relacionada à magnitude do aumento desse marcador.

De fato, diversos estudos comprovam que a gentamicina eleva os níveis séricos e renais de nitrito/nitrato, marcadores indiretos da produção de NO, contribuindo para o estresse oxidativo/nitrosativo por meio da superprodução dessa molécula (Christo *et al.*, 2011; Geshnigani *et al.*, 2023; Moreira *et al.*, 2014; Morsy *et al.*, 2014; Nakaš-Ićindić *et al.*, 2005).

O NAC, apesar de seu conhecido papel como doador de grupos sulfidríla e precursor da síntese da glutatona (Ezeriņa *et al.*, 2018), promoveu diferenças significativas em relação ao grupo Injury. Esse resultado sugere que, nas condições testadas, o NAC foi capaz de neutralizar o aumento de nitrito ou modular de forma relevante a via do NO, atenuando o desequilíbrio induzido pela gentamicina.

A eficácia do NAC pode estar relacionada tanto à dose administrada quanto ao tempo de tratamento. Tenório *et al.* (2021) evidenciaram que doses entre 150 mg/kg e 1200 mg são necessárias para produzir efeitos antioxidantes significativos em pacientes renais crônicos submetidos à cirurgia cardíaca. Além disso, a administração de NAC (5000 mg) durante sessões de hemodiálise foi suficiente para melhorar significativamente a reatividade vascular durante a hiperemia reativa. Esses achados reforçam que a dose, a duração da intervenção e a intensidade do estresse oxidativo constituem fatores determinantes para a eficácia do NAC (Aldini *et al.*, 2018; Chiu *et al.*, 2023).

Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre as doses de CCEO, estudos prévios demonstram que componentes do CCEO, como o citral, podem exercer efeitos distintos dependendo da concentração, especialmente modulando a atividade de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). No entanto, nas condições deste estudo, não foi possível demonstrar um padrão claro de modulação dose-dependente (Devi; Sim; Ismail, 2012; Lee *et al.*, 2008).

O MDA/TBARS, marcador de peroxidação lipídica, que funciona também como um biomarcador do estresse oxidativo (Mohideen *et al.*, 2023; Rein; Mueller, 2017), O grupo injury teve um aumento significativo nos níveis de MDA em comparação ao Naïve e Vehicle, indicando intensificação da peroxidação lipídica nos tecidos renais. Sendo de acordo com a nefrotoxicidade da gentamicina como consequência da geração exacerbada de EROs, levando à oxidação de lipídios de membrana e comprometimento da integridade celular (Abdelrahman, 2018; Ahmadvand *et al.*, 2020; Albukhari *et al.*, 2025; Kandemir *et al.*, 2015).

Os resultados obtidos indicam que o tratamento com NAC reduziu parcialmente os níveis de MDA em comparação ao grupo injury. Esse comportamento sugere uma proteção antioxidante atribuída à reposição de GSH, principal via de ação da NAC, sendo capaz de reduzir ou neutralizar parcialmente o aumento de MDA induzido pela gentamicina. Estudos prévios corroboram esses achados, demonstrando que a NAC

pode atenuar parcialmente os danos oxidativos induzidos por gentamicina e que a dose e o tempo de administração influenciam a eficácia da NAC (Ali *et al.*, 2009; Cui *et al.*, 2019).

As doses de 10 mg/kg e 100 mg/kg do CCEO reduziram significativamente os níveis de MDA em comparação ao grupo Injury, indicando efeito antioxidante nessas concentrações. Em contraste, a dose intermediária de 50 mg/kg não promoveu redução detectável da peroxidação lipídica. Esses achados sugerem que o efeito do CCEO não segue um padrão linear de dose, com respostas mais favoráveis observadas em doses mais baixas (10 mg/kg) e mais altas (100 mg/kg) (Baschieri *et al.*, 2017; Yousuf *et al.*, 2023).

De forma geral, os resultados demonstram que o CCEO apresentou efeitos dependentes da dose, com padrões compatíveis com respostas bifásicas ou horméticas, típicas de substâncias naturais ricos em citral (Jodynys-Liebert; Kujawska, 2020; Wan *et al.*, 2024). No sistema antioxidante, a dose intermediária (50 mg/kg) foi capaz de aumentar significativamente os níveis de GSH, enquanto as doses de 10 mg/kg e 100 mg/kg reduziram de maneira significativa a peroxidação lipídica (MDA), indicando ação antioxidante não linear. Em contraste, nenhuma das doses modulou os níveis de nitrito, sugerindo que o CCEO não exerceu efeito relevante sobre a via do óxido nítrico no modelo de lesão por gentamicina.

O presente estudo sustenta o potencial do CCEO como agente capaz de atenuar dos danos oxidativos induzidos pela gentamicina. Concomitantemente, destaca-se a necessidade de estudos adicionais para elucidar de forma mais precisa seus mecanismos de ação, otimizar doses terapêuticas e compreender integralmente seus efeitos sobre a função e a integridade renal.

8. CONCLUSÃO

As alterações fisiológicas avaliadas permitiram identificar manifestações clínicas associadas efeitos dependentes da dose do CCEO. As análises comportamentais revelaram modulações específicas em parâmetros de exploração e ansiedade, evidenciando que o óleo essencial exerce respostas complexas e, em alguns casos, protetoras, especialmente na dose de 10 mg/kg. Por fim, a investigação dos os marcadores bioquímicos de estresse oxidativo confirmaram que o CCEO exerce efeitos antioxidantes, os quais contribuem para a atenuação das alterações fisiológicas e comportamentais observadas, confirmando sua ação e reforçando a relevância na nefrotoxicidade por gentamicina.

Estudos adicionais, com diferentes regimes de administração, incluindo outras vias e modelos experimentais, são necessários para esclarecer os mecanismos envolvidos e definir com maior precisão a janela terapêutica segura do composto. Entre as limitações do presente estudo, destaca-se a necessidade de avaliar períodos mais longos de exposição tanto à gentamicina quanto ao tratamento, bem como permitir o acompanhamento detalhado da morfologia, possibilitando a identificação de alterações estruturais ao longo da progressão da lesão renal induzida pela gentamicina.

Além disso, permanece em aberto se o estresse oxidativo é causa ou consequência da disfunção mitocondrial. Em outras palavras, ainda não está claro se a gentamicina causa danos mitocondriais primários, levando secundariamente ao aumento de EROS, ou se inicialmente promove a elevação dos níveis de ROS, que por sua vez desencadeiam o dano mitocondrial.

REFERÊNCIAS

ABDELRAHMAN, Rs. Protective effect of apocynin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. **Human & Experimental Toxicology**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 27–37, jan. 2018. <https://doi.org/10.1177/0960327116689716>.

ABUKHALIL, Mohammad H.; AL-ALAMI, Zina; ALTAIE, Hayman A. A.; ALADAILEH, Saleem H.; OTHMAN, Sarah I.; ALTHUNIBAT, Osama Y.; ALFWUAIRES, Manal A.; ALMUQATI, Afaf F.; ALSUWAYT, Bader; RUDAYNI, Hassan A.; ALLAM, Ahmed A.; MAHMOUD, Ayman M. Galangin prevents gentamicin-induced nephrotoxicity by modulating oxidative damage, inflammation and apoptosis in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [S. l.], v. 398, n. 4, p. 3717–3729, abr. 2025. <https://doi.org/10.1007/s00210-024-03449-1>.

AHMADVAND, Hassan; NOURYAZDAN, Negar; NASRI, Maryam; ADIBHESAMI, Glavizh; BABAEENEZHAD, Esmaeel. Renoprotective Effects of Gallic Acid Against Gentamicin Nephrotoxicity Through Amelioration of Oxidative Stress in Rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. l.], v. 63, p. e20200131, 2020. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020200131>.

ALBUKHARI, Talat A.; BAGADOOD, Rehab M.; BOKHARI, Bayan T.; FILIMBAN, Waheed A.; SEMBAWA, Hatem; NASRELDIN, Nani; GADALLA, Hossam E.; EL-BOSHY, Mohamed E. Chrysin Attenuates Gentamicin-Induced Renal Injury in Rats Through Modulation of Oxidative Damage and Inflammation via Regulation of Nrf2/AKT and NF-kB/KIM-1 Pathways. **Biomedicines**, [S. l.], v. 13, n. 2, p. 271, 23 jan. 2025. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13020271>.

ALCALDE, Paulo Roberto; KIRSZTAJN, Gianna Mastroianni. Expenses of the Brazilian Public Healthcare System with chronic kidney disease. **Brazilian Journal of Nephrology**, [S. l.], v. 40, n. 2, p. 122–129, 4 jun. 2018. <https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-3918>.

ALDINI, Giancarlo; ALTOMARE, Alessandra; BARON, Giovanna; VISTOLI, Giulio; CARINI, Marina; BORSANI, Luisa; SERGIO, Francesco. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. **Free Radical Research**, [S. l.], v. 52, n. 7, p. 751–762, 3 jul. 2018.

<https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1468564>.

ALI, B. H.; AL-SALAM, S.; AL-HUSSEINI, I.; NEMMAR, A. Comparative protective effect of *N*-acetyl cysteine and tetramethylpyrazine in rats with gentamicin nephrotoxicity. **Journal of Applied Toxicology**, [S. l.], v. 29, n. 4, p. 302–307, maio 2009. <https://doi.org/10.1002/jat.1409>.

ALI, B. H.; GAYOUM, A. A. Abdel; BASHIR, A. A. Gentamicin Nephrotoxicity in Rat: Some Biochemical Correlates. **Pharmacology & Toxicology**, [S. l.], v. 70, n. 6, p. 419–423, jun. 1992. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1992.tb00500.x>.

ALMEIDA, Jáder Pereira; JOÃO, Paulo Ramos David; SYLVESTRE, Lucimary De Castro. Impact of the use of nephrotoxic drugs in critically ill pediatric patients. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, [S. l.], v. 32, n. 4, 2020. DOI: 10.5935/0103-507X.20200093. Disponível em: <https://criticalcarescience.org/article/impact-of-the-use-of-nephrotoxic-drugs-in-critically-ill-pediatric-patients/>. Acesso em: 18 set. 2025.

ALTHUNIBAT, Osama Y.; ABUKHALIL, Mohammad H.; ALADAILEH, Saleem H.; QARALLEH, Haitham; AL-AMARAT, Wesam; ALFWUAIRES, Manal A.; ALGEFARE, Abdulmohsen I.; NAMAZI, Nader Ibrahim; MELEBARY, Sahar J.; BABALGHITH, Ahmad O.; CONTE-JUNIOR, Carlos Adam. Formononetin Ameliorates Renal Dysfunction, Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis and Upregulates Nrf2/HO-1 Signaling in a Rat Model of Gentamicin-Induced Nephrotoxicity. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 13, p. 916732, 26 maio 2022. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.916732>.

AMIR, Sony; ABID, Muhammad; NADEEM, Humaira; TIPU, Muhammad Khalid; IRSHAD, Nadeem. The nephroprotective potential of selected synthetic compound against gentamicin induced nephrotoxicity. **BMC Pharmacology and Toxicology**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 68, 27 set. 2024. <https://doi.org/10.1186/s40360-024-00765-3>.

AVOSEH, Opeyemi; OYEDEJI, Opeoluwa; RUNGQU, Pamela; NKEH-CHUNGAG, Benedicta; OYEDEJI, Adebola. Cymbopogon Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. **Molecules**, [S. l.], v. 20, n. 5, p. 7438–7453, 23 abr. 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules20057438>.

BABAEENEZHAD, Esmaeel; HADIPOUR MORADI, Forouzan; RAHIMI MONFARED, Sobhan; FATTAHI, Mohammad Davood; NASRI, Maryam; AMINI, Abdolhakim; DEZFOULIAN, Omid; AHMADVAND, Hassan. D-Limonene Alleviates Acute Kidney Injury Following Gentamicin Administration in Rats: Role of NF- κ B Pathway, Mitochondrial Apoptosis, Oxidative Stress, and PCNA. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [S. l.], v. 2021, n. 1, p. 6670007, jan. 2021.
<https://doi.org/10.1155/2021/6670007>.

BAIAMONTE, Matteo; PARKER, Matthew O.; VINSON, Gavin P.; BRENNAN, Caroline H. Sustained Effects of Developmental Exposure to Ethanol on Zebrafish Anxiety-Like Behaviour. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. e0148425, 10 fev. 2016.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148425>.

BALAHA, Mohamed F.; ALAMER, Ahmed A.; EISA, Alaa A.; ALJOHANI, Hashim M. Shikonin Alleviates Gentamicin-Induced Renal Injury in Rats by Targeting Renal Endocytosis, SIRT1/Nrf2/HO-1, TLR-4/NF- κ B/MAPK, and PI3K/Akt Cascades. **Antibiotics**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. 826, 28 abr. 2023.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12050826>.

BANDAY, Anees A.; FAROOQ, Neelam; PRIYAMVADA, Shubha; YUSUFI, Ahad N.K.; KHAN, Farah. Time dependent effects of gentamicin on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane and oxidative stress in rat kidney tissues. **Life Sciences**, [S. l.], v. 82, n. 9–10, p. 450–459, fev. 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.11.014>.

BARADARAN, Azar; NASRI, Hamid; RAFIEIANKOPAEI, Mahmoud. Protection of Renal Tubular Cells by Antioxidants: Current Knowledge and New Trends. **Cell Journal (Yakhteh)**, [S. l.], v. 16, n. 4, jan. 2015. DOI: 10.22074/cellj.2015.503.
 Disponível em: <https://doi.org/10.22074/cellj.2015.503>. Acesso em: 8 ago. 2025.

BARBAS, Luis André Luz; HAMOY, Moisés; DE MELLO, Vanessa Jóia; BARBOSA, Ruan Paulo Melo; DE LIMA, Hildado Socorro Trindade; TORRES, Marcelo Ferreira; DO NASCIMENTO, Luis Adriano Santos; DA SILVA, Joyce Kelly Do Rosário; ANDRADE, Eloísa Helena De Aguiar; GOMES, Madson Ralide Fonseca. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in tambaqui *Colossoma macropomum*: A new anaesthetic for use in fish. **Aquaculture**, [S. l.], v. 479, p. 60–

68, out. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.027>.

BASCHIERI, Andrea; AJVAZI, Majlinda Daci; TONFACK, Judith Laure Folifack; VALGIMIGLI, Luca; AMORATI, Riccardo. Explaining the antioxidant activity of some common non-phenolic components of essential oils. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 232, p. 656–663, out. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.036>.

BAYALA, Bagora; BASSOLE, Imaël H.N.; MAQDASY, Salwan; BARON, Silvère; SIMPORE, Jacques; LOBACCARO, Jean-Marc A. Cymbopogon citratus and Cymbopogon giganteus essential oils have cytotoxic effects on tumor cell cultures. Identification of citral as a new putative anti-proliferative molecule. **Biochimie**, [S. l.], v. 153, p. 162–170, out. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.02.013>.

BERHE, Kenfe Tesfay; GESESEW, Hailay Abrha; WARD, Paul R. Traditional healing practices, factors influencing to access the practices and its complementary effect on mental health in sub-Saharan Africa: a systematic review. **BMJ Open**, [S. l.], v. 14, n. 9, p. e083004, set. 2024. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2023-083004>.

BORKATULLA, Bijly; FERDOUS, Jannatul; UDDIN, Abdul Hasib; MAHMUD, Prince. Bangladeshi medicinal plant dataset. **Data in Brief**, [S. l.], v. 48, p. 109211, jun. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2023.109211>.

BOUKHATEM, Mohamed Nadjib; FERHAT, Mohamed Amine; KAMELI, Abdelkrim; SAIDI, Fairouz; KEBIR, Hadjer Tchoketch. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. **Libyan Journal of Medicine**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 25431, jan. 2014. <https://doi.org/10.3402/ljm.v9.25431>.

BRASIL, Ministério da Saúde. **A Fitoterapia No Sus E O Programa De Pesquisa De Plantas Medicinais Da Central De Medicamentos**. [S. l.]: Ms, 21 jun. 2006. (Série B. Textos Básicos De Saúde).

CACHAT, Jonathan; KYZAR, Evan J.; COLLINS, Christopher; GAIKWAD, Siddharth; GREEN, Jeremy; ROTH, Andrew; EL-OUNSI, Mohamed; DAVIS, Ari; PHAM, Mimi; LANDSMAN, Samuel; STEWART, Adam Michael; KALUEFF, Allan V. Unique and potent effects of acute ibogaine on zebrafish: The developing utility of novel aquatic models for hallucinogenic drug research. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 236, p. 258–269, jan. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.08.041>.

CALABRESE, Edward J.; PRESSMAN, Peter; HAYES, A. Wallace; DHAWAN, Gaurav; KAPOOR, Rachna; AGATHOKLEOUS, Evgenios; BALDWIN, Linda A.; CALABRESE, Vittorio. The chemoprotective hormetic effects of rosmarinic acid.

Open Medicine, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 20241065, 21 out. 2024.

<https://doi.org/10.1515/med-2024-1065>.

CAPETTI, Francesca; TACCHINI, Massimo; MARENGO, Arianna; CAGLIERO, Cecilia; BICCHI, Carlo; RUBIOLO, Patrizia; SGORBINI, Barbara. Citral-Containing Essential Oils as Potential Tyrosinase Inhibitors: A Bio-Guided Fractionation Approach. **Plants**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 969, 13 maio 2021.

<https://doi.org/10.3390/plants10050969>.

CARREGOSA, Diogo; LONCAREVIC-VASILJKOVIC, Natasa; FELICIANO, Raquel; MOURA-LOURO, Diogo; MENDES, César S.; DOS SANTOS, Cláudia Nunes.

Locomotor and gait changes in the LPS model of neuroinflammation are correlated with inflammatory cytokines in blood and brain. **Journal of Inflammation**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 39, 8 out. 2024. <https://doi.org/10.1186/s12950-024-00412-y>.

CHARAN, Jaykaran; KANTHARIA, N. D. How to calculate sample size in animal studies? **Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 303–306, dez. 2013. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>.

CHERESIZ, Sergey V.; VOLGIN, Andrey D.; KOKORINA EVSYUKOVA, Alexandra; BASHIRZADE, Alim A.O.; DEMIN, Konstantin A.; DE ABREU, Murilo S.; AMSTISLAVSKAYA, Tamara G.; KALUEFF, Allan V. Understanding neurobehavioral genetics of zebrafish. **Journal of Neurogenetics**, [S. l.], v. 34, n. 2, p. 203–215, 2 abr. 2020. <https://doi.org/10.1080/01677063.2019.1698565>.

CHEROBIN, Fabiane; BUFFON, Marilene M.; CARVALHO, Denise S. De; RATTMANN, Yanna D. Plantas medicinais e políticas públicas de saúde: novos olhares sobre antigas práticas. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, [S. l.], v. 32, n. 3, p. e320306, 2022. <https://doi.org/10.1590/s0103-73312022320306>.

CHIU, Ai-Hua; WANG, Chih-Jen; LIN, Ya-Ling; WANG, Chia-Liang; CHIANG, Tsay-I. N-Acetylcysteine Alleviates the Progression of Chronic Kidney Disease: A Three-Year Cohort Study. **Medicina**, [S. l.], v. 59, n. 11, p. 1983, 10 nov. 2023.

<https://doi.org/10.3390/medicina59111983>.

CHRISTO, Joelma Santana; RODRIGUES, Adelson Marçal; MOURO, Margaret Gori; CENEDEZE, Marcos Antonio; SIMÕES, Manuel De Jesus; SCHOR, Nestor; HIGA, Elisa Mieko Suemitsu. Nitric oxide (NO) is associated with gentamicin (GENTA) nephrotoxicity and the renal function recovery after suspension of GENTA treatment in rats. **Nitric Oxide**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 77–83, mar. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2010.12.001>.

CIRIO, Maria Cecilia; DE CAESTECKER, Mark P.; HUKRIEDE, Neil A. Zebrafish Models of Kidney Damage and Repair. **Current Pathobiology Reports**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 163–170, jun. 2015. <https://doi.org/10.1007/s40139-015-0080-4>.

CLEMENT, Y. N.; BAKSH-COMEAU, Y. S.; SEAFORTH, C. E. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Trinidad. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 67, dez. 2015. <https://doi.org/10.1186/s13002-015-0052-0>.

COCKWELL, Paul; FISHER, Lori-Ann. The global burden of chronic kidney disease. **The Lancet**, [S. l.], v. 395, n. 10225, p. 662–664, fev. 2020. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32977-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32977-0).

CUI, Jing; TANG, Li; HONG, Quan; LIN, Shupeng; SUN, Xuefeng; CAI, Guangyan; BAI, Xue-Yuan; CHEN, Xiangmei. N-Acetylcysteine Ameliorates Gentamicin-Induced Nephrotoxicity by Enhancing Autophagy and Reducing Oxidative Damage in Miniature Pigs. **Shock**, [S. l.], v. 52, n. 6, p. 622–630, dez. 2019. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001319>.

CUMAOGU, Mustafa Oguz; MAKAV, Mustafa; DAG, Serpil; UYSAL, Ayfer Yildiz; BASER, Lale; LEBARON, Tyler W.; ALWAZEER, Duried. Combating oxidative stress and inflammation in gentamicin-induced nephrotoxicity using hydrogen-rich water. **Tissue and Cell**, [S. l.], v. 91, p. 102604, dez. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2024.102604>.

DA SILVA, Ivanildo Inacio; DA SILVA, Niely Priscila Correia; MARRS, James A.; CADENA, Pabyton Gonçalves. Essential Oils Produce Developmental Toxicity in Zebrafish Embryos and Cause Behavior Changes in Zebrafish Larvae.

Biomedicines, [S. l.], v. 11, n. 10, p. 2821, 18 out. 2023.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines11102821>.

DE SOUZA, Priscila; MARIANO, Luísa Nathália Bolda; CECHINEL-ZANCHETT, Camile Cecconi; CECHINEL-FILHO, Valdir. Promising Medicinal Plants with Diuretic Potential Used in Brazil: State of the Art, Challenges, and Prospects. **Planta Medica**, [S. l.], v. 87, n. 01/02, p. 24–37, fev. 2021. <https://doi.org/10.1055/a-1257-0887>.

DEVI, R. Chitra; SIM, S. M.; ISMAIL, R. Effect of *Cymbopogon citratus* and Citral on Vascular Smooth Muscle of the Isolated Thoracic Rat Aorta. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2012, p. 1–8, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/539475>.

DONG, Xing-Qiang; CHU, Li-Kai; CAO, Xu; XIONG, Qian-Wei; MAO, Yi-Ming; CHEN, Ching-Hsien; BI, Yun-Li; LIU, Jun; YAN, Xiang-Ming. Glutathione metabolism rewiring protects renal tubule cells against cisplatin-induced apoptosis and ferroptosis. **Redox Report**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 2152607, 31 dez. 2023. <https://doi.org/10.1080/13510002.2022.2152607>.

DRUMMOND, Bridgette E. Insights into kidney stem cell development and regeneration using zebrafish. **World Journal of Stem Cells**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 22, 2016. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v8.i2.22>.

DRUMMOND, Iain A.; DAVIDSON, Alan J. Zebrafish Kidney Development. **Methods in Cell Biology**. [S. l.]: Elsevier, 2010. v. 100, p. 233–260. DOI: 10.1016/B978-0-12-384892-5.00009-8. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123848925000098>. Acesso em: 18 set. 2025.

DUTRA COSTA, Bruna Patricia; AQUINO MOURA, Layana; GOMES PINTO, Sabrina Alana; LIMA-MAXIMINO, Monica; MAXIMINO, Caio. Zebrafish Models in Neural and Behavioral Toxicology across the Life Stages. **Fishes**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 23, 31 jul. 2020. <https://doi.org/10.3390/fishes5030023>.

EMARA, Sherien Mohamed; FAHMY, Sarah Farid; ABDELSALAM, Mona Mohamed; WAKEEL, Lamia Mohamed El. Effect of high-dose N-acetyl cysteine on the clinical outcome of patients with diabetic peripheral neuropathy: a randomized controlled

study. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 79, 4 mar. 2025. <https://doi.org/10.1186/s13098-025-01624-9>.

ERUOTOR, Harrison Ogheneochuko; ASIWE, Jerome Ndudi; ERUOTOR, Taiye Martha. Cymbopogon citratus protect against lead-induced suppression of haematological and tubuloglomerular functions as well as disruption of hepatocellular membranes in male Wistar rats. **Journal of Trace Elements and Minerals**, [S. l.], v. 3, p. 100045, mar. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jtemin.2022.100045>.

EZERİNA, Daria; TAKANO, Yoko; HANAOKA, Kenjiro; URANO, Yasuteru; DICK, Tobias P. N-Acetyl Cysteine Functions as a Fast-Acting Antioxidant by Triggering Intracellular H₂S and Sulfane Sulfur Production. **Cell Chemical Biology**, [S. l.], v. 25, n. 4, p. 447-459.e4, abr. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2018.01.011>.

FATMA, Sana; NAYAK, Usharani; SWAIN, Rajeeb K. Methods to generate and evaluate zebrafish models of human kidney diseases. **The International Journal of Developmental Biology**, [S. l.], v. 65, n. 7-8-9, p. 475-485, 2021. <https://doi.org/10.1387/ijdb.210041rs>.

FITZGERALD, Jennifer A.; KÖNEMANN, Sarah; KRÜMPELMANN, Laura; ŽUPANIČ, Anže; VOM BERG, Colette. Approaches to Test the Neurotoxicity of Environmental Contaminants in the Zebrafish Model: From Behavior to Molecular Mechanisms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 989-1006, 3 dez. 2020. <https://doi.org/10.1002/etc.4951>.

GAMAAN, Manar; ZAKY, Heba; AHMED, Hebatalla. Gentamicin-induced nephrotoxicity: A mechanistic approach. **Azhar International Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences**, [S. l.], v. 0, n. 0, p. 0-0, 16 mar. 2023. <https://doi.org/10.21608/aijpms.2023.161755.1167>.

GENTLE, Madeleine E.; SHI, Shaolin; DAEHN, Ilse; ZHANG, Taoran; QI, Haiying; YU, Liping; D'AGATI, Vivette D.; SCHLONDORFF, Detlef O.; BOTTINGER, Erwin P. Epithelial Cell TGF β Signaling Induces Acute Tubular Injury and Interstitial Inflammation. **Journal of the American Society of Nephrology**, [S. l.], v. 24, n. 5, p. 787-799, maio 2013. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012101024>.

GESHNIGANI, Seyed Sajad Hossieni; MAHDAVINIA, Masoud; KALANTAR, Mojtaba;

GOUDARZI, Mehdi; KHORSANDI, Layasadat; KALANTAR, Hadi. Diosmin prophylaxis reduces gentamicin-induced kidney damage in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [S. l.], v. 396, n. 1, p. 63–71, jan. 2023. <https://doi.org/10.1007/s00210-022-02295-3>.

GREEN, Laura C.; TANNENBAUM, Steven R.; GOLDMAN, Peter. Nitrate Synthesis in the Germfree and Conventional Rat. **Science**, [S. l.], v. 212, n. 4490, p. 56–58, 3 abr. 1981. <https://doi.org/10.1126/science.6451927>.

GUMBAR, Shubhangi; BHARDWAJ, Sudeep; MEHAN, Sidharth; KHAN, Zuber; NARULA, Acharan S.; KALFIN, Reni; TABREZ, Shams; ZUGHAIBI, Torki A.; WASI, Samina. Renal mitochondrial restoration by gymnemic acid in gentamicin-mediated experimental nephrotoxicity: evidence from serum, kidney and histopathological alterations. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 14, p. 1218506, 13 jul. 2023. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1218506>.

GUO, Ning; LIN, Jia; PENG, Xiaolan; CHEN, Haojun; ZHANG, Yinglan; LIU, Xiuyun; LI, Qiang. Influences of acute ethanol exposure on locomotor activities of zebrafish larvae under different illumination. **Alcohol**, [S. l.], v. 49, n. 7, p. 727–737, nov. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2015.08.003>.

HACKE, Ana Carolina Mendes; MIYOSHI, Edmar; MARQUES, Jacqueline Aparecida; PEREIRA, Romaiana Picada. Cymbopogon citratus (DC.) Stapf, citral and geraniol exhibit anticonvulsant and neuroprotective effects in pentylenetetrazole-induced seizures in zebrafish. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 275, p. 114142, jul. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114142>.

HAJIZADEH MOGHADDAM, Akbar; MASHAYEKHPOUR, Mohammad Amin; TABARI, Mohaddeseh Abouhosseini. Anxiolytic-like effects of citral in the mouse elevated plus maze: involvement of GABAergic and serotonergic transmissions. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [S. l.], v. 396, n. 2, p. 301–309, fev. 2023. <https://doi.org/10.1007/s00210-022-02317-0>.

HAMILTON, Trevor J.; KROOK, Jeffrey; SZASZKIEWICZ, Joshua; BURGGREN, Warren. Shoaling, boldness, anxiety-like behavior and locomotion in zebrafish (*Danio rerio*) are altered by acute benzo[a]pyrene exposure. **Science of The Total**

Environment, [S. l.], v. 774, p. 145702, jun. 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145702>.

HAO, Yan; MIAO, Jie; LIU, Wenjia; PENG, Li; CHEN, Yue; ZHONG, Qing.

Formononetin protects against cisplatin-induced acute kidney injury through activation of the PPAR α /Nrf2/HO-1/NQO1 pathway. **International Journal of**

Molecular Medicine, [S. l.], v. 47, n. 2, p. 511–522, 1 dez. 2020.

<https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4805>.

HOFFMAN, M.; TAYLOR, B.E.; HARRIS, M.B. Evolution of lung breathing from a

lungless primitive vertebrate. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, [S. l.], v.

224, p. 11–16, abr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2015.09.016>.

HOO, Jing Ying; KUMARI, Yatinesh; SHAIKH, Mohd Farooq; HUE, Seow Mun; GOH,

Bey Hing. Zebrafish: A Versatile Animal Model for Fertility Research. **BioMed**

Research International, [S. l.], v. 2016, p. 9732780, 2016.

<https://doi.org/10.1155/2016/9732780>.

HUSSAIN, Akhlaq; AUDIRA, Gilbert; SIREGAR, Petrus; LIN, Yi-Chen; VILLALOBOS,

Omar; VILLAFLORES, Oliver; WANG, Wen-Der; HSIAO, Chung-Der. Waterborne

Exposure of Paclobutrazol at Environmental Relevant Concentration Induce

Locomotion Hyperactivity in Larvae and Anxiolytic Exploratory Behavior in Adult

Zebrafish. **International Journal of Environmental Research and Public Health**,

[S. l.], v. 17, n. 13, p. 4632, 27 jun. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijerph17134632>.

IGWEBUIKE, Chinaemere; YAGLOM, Julia; HUITING, Leah; FENG, Hui;

CAMPBELL, Joshua D.; WANG, Zhiyong; HAVASI, Andrea; PIMENTEL, David;

SHERMAN, Michael Y.; BORKAN, Steven C. Cross organelle stress response

disruption promotes gentamicin-induced proteotoxicity. **Cell Death & Disease**, [S. l.],

v. 11, n. 4, p. 217, 3 abr. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2382-7>.

IKRAM, Huma; AJAZ, Sania; IFTIKHAR, Mahwish; BANO, Shehar; ZAHEER, Sadaf;

SHABBIR, Atufa; HALEEM, Darakhshan Jabeen. Repurposing N-acetylcysteine:

Unveiling Its Potential for Memory Enhancement in Animal Model. **Nutraceutical**

Research, [S. l.], v. 3, n. 2, 1 nov. 2024. DOI: 10.35702/nutri.10009. Disponível em:

<https://www.jnutraceutical.com/full-text/repurposing-n-acetylcysteine-unveiling-its->

potential-for-memory-enhancement-in-animal-model. Acesso em: 13 set. 2025.

IMIG, John D.; RYAN, Michael J. Immune and Inflammatory Role in Renal Disease. *In*: PRAKASH, Y. S. (org.). **Comprehensive Physiology**. 1. ed. [S. l.]: Wiley, abr. 2013. ed. 1, p. 957–976. DOI: 10.1002/cphy.c120028. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphy.c120028>. Acesso em: 18 set. 2025.

IRONS, T.D.; MACPHAIL, R.C.; HUNTER, D.L.; PADILLA, S. Acute neuroactive drug exposures alter locomotor activity in larval zebrafish. **Neurotoxicology and Teratology**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 84–90, jan. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2009.04.066>.

JACOB, Jackcy; DANNENHOFFER, Joanne; RUTTER, Annie. Acute Kidney Injury. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, [S. l.], v. 47, n. 4, p. 571–584, dez. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2020.08.008>.

JENSEN, Frank B. The role of nitrite in nitric oxide homeostasis: A comparative perspective. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, [S. l.], v. 1787, n. 7, p. 841–848, jul. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2009.02.010>.

JODYNIS-LIEBERT, Jadwiga; KUJAWSKA, Małgorzata. Biphasic Dose-Response Induced by Phytochemicals: Experimental Evidence. **Journal of Clinical Medicine**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 718, 6 mar. 2020. <https://doi.org/10.3390/jcm9030718>.

JOHNSON, Andréa; LOH, Erica; VERBITSKY, Ryan; SLESSOR, Jordan; FRAN CZAK, Brian C.; SCHALOMON, Melike; HAMILTON, Trevor J. Examining behavioural test sensitivity and locomotor proxies of anxiety-like behaviour in zebrafish. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 13, n. 1, 7 mar. 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-29668-9. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-29668-9>. Acesso em: 8 jul. 2025.

KA, Shuk-Man; LIN, Jung-Chen; LIN, Tsai-Jung; LIU, Feng-Cheng; CHAO, Louis Kuoping; HO, Chen-Lung; YEH, Li-Tzu; SYTWU, Huey-Kang; HUA, Kuo-Feng; CHEN, Ann. Citral alleviates an accelerated and severe lupus nephritis model by inhibiting the activation signal of NLRP3 inflammasome and enhancing Nrf2 activation. **Arthritis Research & Therapy**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 331, dez. 2015. <https://doi.org/10.1186/s13075-015-0844-6>.

KAMEI, Caramai N.; LIU, Yan; DRUMMOND, Iain A. Kidney Regeneration in Adult Zebrafish by Gentamicin Induced Injury. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], n. 102, p. 51912, 3 ago. 2015. <https://doi.org/10.3791/51912>.

KANDEMIR, Fatih Mehmet; OZKARACA, Mustafa; YILDIRIM, Betul Apaydin; HANEDAN, Basak; KIRBAS, Akin; KILIC, Kubra; AKTAS, Esra; BENZER, Fulya. Rutin attenuates gentamicin-induced renal damage by reducing oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy in rats. **Renal Failure**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 518–525, 16 mar. 2015. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2015.1006100>.

KANG, Hyun Goo; LEE, Hyun Ki; CHO, Kyu Bong; PARK, Sang Il. A Review of Natural Products for Prevention of Acute Kidney Injury. **Medicina**, [S. l.], v. 57, n. 11, p. 1266, 18 nov. 2021. <https://doi.org/10.3390/medicina57111266>.

KANLAYA, Rattiyaporn; THONGBOONKERD, Visith. Protective Effects of Epigallocatechin-3-Gallate from Green Tea in Various Kidney Diseases. **Advances in Nutrition**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 112–121, jan. 2019. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy077>.

KARAMI, Soodeh; YARGHOLI, Alireza; SADATI LAMARDI, Seyede Nargess; SOLEYMANI, Samaneh; SHIRBEIGI, Laila; RAHIMI*, Roja. A Review of Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of Cymbopogon Species. **Research Journal of Pharmacognosy**, [S. l.], v. 8, n. 3, jul. 2021. DOI: 10.22127/rjp.2021.275223.1682. Disponível em: <https://doi.org/10.22127/rjp.2021.275223.1682>. Acesso em: 15 nov. 2025.

KHAN, Kanza M; COLLIER, Adam D; MESHALKINA, Darya A; KYSIL, Elana V; KHATSKO, Sergey L; KOLESNIKOVA, Tatyana; MORZHERIN, Yury Yu; WARNICK, Jason E; KALUEFF, Allan V; ECHEVARRIA, David J. Zebrafish models in neuropsychopharmacology and CNS drug discovery. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 174, n. 13, p. 1925–1944, jul. 2017. <https://doi.org/10.1111/bph.13754>.

KINKEL, Mary D.; EAMES, Stefani C.; PHILIPSON, Louis H.; PRINCE, Victoria E. Intraperitoneal Injection into Adult Zebrafish. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], n. 42, p. 2126, 30 ago. 2010. <https://doi.org/10.3791/2126>.

KOZA, Yavuzer. Acute kidney injury: Current concepts and new insights. **Journal of Injury and Violence Research**, [S. l.], 1 jan. 2014. DOI: 10.5249/jivr.v8i1.610.

Disponível em: <http://www.jivresearch.org/jivr/index.php/jivr/article/view/610>. Acesso em: 18 set. 2025.

KREMER, Jean Lucas; MELO, Gabriella Pasqual; MARINELLO, Poliana Camila; BORDINI, Heloíza Paranzini; ROSSANEIS, Ana C.; SÁBIO, Laís Roberta; CECCHINI, Rubens; CECCHINI, Alessandra Lourenço; VERRI, Waldiceu A.; LUIZ, Rodrigo Cabral. Citral prevents UVB-induced skin carcinogenesis in hairless mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [S. l.], v. 198, p. 111565, set. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111565>.

KULKEAW, Kasem; ISHITANI, Tohru; KANEMARU, Takaaki; IVANOVSKI, Ognen; NAKAGAWA, Midori; MIZUOCHI, Chiyo; HORIO, Yuka; SUGIYAMA, Daisuke. Cold exposure down-regulates zebrafish pigmentation: Cold zebrafish pigmentation. **Genes to Cells**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 358–367, abr. 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2011.01498.x>.

KUMAR, Sanjeev. Cellular and molecular pathways of renal repair after acute kidney injury. **Kidney International**, [S. l.], v. 93, n. 1, p. 27–40, jan. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.07.030>.

KURSUNLUOGLU, Gizem; KAYALI, Hulya Ayar; TASKIRAN, Dilek. The Effect of Cisplatin Toxicity and Capsaicin on Electron Transport Chain in Liver and Kidney of Sprague Dawley Rats. **Cell Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 69, n. 3, p. 707–716, jul. 2014. <https://doi.org/10.1007/s12013-014-9857-z>.

KUSMARDIYANI, Siti; ALFIANTI, Fitria; FIDRIANNY, Irdi. ANTIOXIDANT PROFILE AND PHYTOCHEMICAL CONTENT OF THREE KINDS OF LEMON. [S. l.], v. 9, n. 4, 2016.

LACHOWICZ, Joanna; NIEDZIAŁEK, Karolina; ROSTKOWSKA, Ewelina; SZOPA, Aleksandra; ŚWIĄDER, Katarzyna; SZPONAR, Jarosław; SEREFKO, Anna. Zebrafish as an Animal Model for Testing Agents with Antidepressant Potential. **Life**, [S. l.], v. 11, n. 8, p. 792, 5 ago. 2021. <https://doi.org/10.3390/life11080792>.

LEE, Hwa Jeong; JEONG, Heon Sang; KIM, Dae Joong; NOH, Young Hee; YUK,

Dong Yeon; HONG, Jin Tae. Inhibitory effect of citral on NO production by suppression of iNOS expression and NF- κ B activation in RAW264.7 cells. **Archives of Pharmacal Research**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 342–349, mar. 2008.

<https://doi.org/10.1007/s12272-001-1162-0>.

LENTH, Russell V. Some Practical Guidelines for Effective Sample Size Determination. **The American Statistician**, [S. l.], v. 55, n. 3, p. 187–193, ago. 2001.

<https://doi.org/10.1198/000313001317098149>.

LI, Qing; XING, Changying; YUAN, Yanggang. Mitochondrial Targeting of Herbal Medicine in Chronic Kidney Disease. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 12, p. 632388, 26 maio 2021. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.632388>.

LI, Xiao-hong; FU, Cheng; TAN, Xue-ting; FU, Shi-jian. Responses of zebrafish to chronic environmental stressors: anxiety-like behavior and its persistence. **Frontiers in Marine Science**, [S. l.], v. 12, 12 mar. 2025. DOI: 10.3389/fmars.2025.1551595.

Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2025.1551595/full>.

Acesso em: 8 jul. 2025.

LIANG, Weiwenhui; LI, Bowen; JONG, Mui-Choo; MA, Cuizhu; ZUO, Chencheng; CHEN, Qiqing; SHI, Huahong. Process-oriented impacts of microplastic fibers on behavior and histology of fish. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 448, p. 130856, abr. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130856>.

LIM, Soyoung; KANG, Habyeong; KWON, Bareum; LEE, Jung Pyo; LEE, Jeonghwan; CHOI, Kyungho. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism for screening nephrotoxic chemicals and related mechanisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 242, p. 113842, set. 2022.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113842>.

LOPEZ-NOVOA, Jose M.; QUIROS, Yaremi; VICENTE, Laura; MORALES, Ana I.; LOPEZ-HERNANDEZ, Francisco J. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. **Kidney International**, [S. l.], v. 79, n. 1, p. 33–45, jan. 2011. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.337>.

LORDANI, Tarcisio Vitor Augusto; DE LARA, Celia Eliane; FERREIRA, Fabiana Borges Padilha; DE SOUZA TERRON MONICH, Mariana; MESQUITA DA SILVA,

Claudinei; FELICETTI LORDANI, Claudia Regina; GIACOMINI BUENO, Fernanda; VIEIRA TEIXEIRA, Jorge Juarez; LONARDONI, Maria Valdrinez Campana.

Therapeutic Effects of Medicinal Plants on Cutaneous Wound Healing in Humans: A Systematic Review. **Mediators of Inflammation**, [S. l.], v. 2018, p. 1–12, 2018.

<https://doi.org/10.1155/2018/7354250>.

MAGALHÃES, Francisco Ernani Alves; DE SOUSA, Caio Átila Prata Bezerra; SANTOS, Sacha Aubrey Alves Rodrigues; MENEZES, Renata Barbosa; BATISTA, Francisco Lucas Alves; ABREU, Ângela Oliveira; DE OLIVEIRA, Messias Vital; MOURA, Luiz Francisco Wemmenson Gonçalves; RAPOSO, Ramon Da Silva; CAMPOS, Adriana Rolim. Adult Zebrafish (*Danio rerio*): An Alternative Behavioral Model of Formalin-Induced Nociception. **Zebrafish**, [S. l.], v. 14, n. 5, p. 422–429, out. 2017. <https://doi.org/10.1089/zeb.2017.1436>.

MAHMOUD, Yi; FARAG, S. Kiwifruit ameliorates gentamicin induced histological and histochemical alterations in the kidney of albino mice. **Biotechnic & Histochemistry**, [S. l.], v. 92, n. 5, p. 357–362, 4 jul. 2017.

<https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1318222>.

MARTÍNEZ-SALGADO, Carlos; ELENO, Nélida; TAVARES, Paula; RODRÍGUEZ-BARBERO, Alicia; GARCÍA-CRIADO, Javier; BOLAÑOS, Juan P.; LÓPEZ-NOVOA, José M. Involvement of reactive oxygen species on gentamicin-induced mesangial cell activation. **Kidney International**, [S. l.], v. 62, n. 5, p. 1682–1692, nov. 2002.

<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00635.x>.

MARTINS, Wanderson Da Silva; DE ARAÚJO, Jayuri Susy Fernandes; FEITOSA, Bruno Fonsêca; OLIVEIRA, Jéssica Ribeiro; KOTZEBUE, Lloyd Ryan Viana; AGOSTINI, Deuber Lincon Da Silva; DE OLIVEIRA, Diego Lomonaco Vasconcelos; MAZZETTO, Selma Elaine; CAVALCANTI, Mônica Tejo; DA SILVA, André Leandro.

Lemongrass (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf) essential oil microparticles:

Development, characterization, and antioxidant potential. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 355, p. 129644, set. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129644>.

MATSUURA, Ritaro; UKEDA, Hiroyuki; SAWAMURA, Masayoshi. Tyrosinase Inhibitory Activity of Citrus Essential Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 54, n. 6, p. 2309–2313, 1 mar. 2006.

<https://doi.org/10.1021/jf051682i>.

MAXIMINO, Caio; DE BRITO, Thiago Marques; DA SILVA BATISTA, Annanda Waneza; HERCULANO, Anderson Manoel; MORATO, Silvio; GOUVEIA, Amauri. Measuring anxiety in zebrafish: A critical review. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 214, n. 2, p. 157–171, dez. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.05.031>.

MENDES HACKE, Ana Carolina; D'AVILA DA SILVA, Fernanda; LIMA, Dhésmon; REBUGLIO VELLOSA, José Carlos; TEIXEIRA ROCHA, João Batista; MARQUES, Jacqueline Aparecida; PEREIRA, Romaiana Picada. Cytotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf fractions, essential oil, citral, and geraniol in human leukocytes and erythrocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 291, p. 115147, jun. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115147>.

MENDES HACKE, Ana Carolina; MIYOSHI, Edmar; MARQUES, Jacqueline Aparecida; PEREIRA, Romaiana Picada. Anxiolytic properties of *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf extract, essential oil and its constituents in zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 260, p. 113036, out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113036>.

MERCADO, Michael G.; SMITH, Dustin K.; GUARD, Esther L. Acute Kidney Injury: Diagnosis and Management. **American Family Physician**, [S. l.], v. 100, n. 11, p. 687–694, 1 dez. 2019.

MESALLAM, Dalia; ELKHISHIN, Iman; ABDELKADER, Shymaa; ABDELWAHAB, Mai; ABD EL-FATAH, Samaa; ATEF, Mona. *Cymbopogon Citratus* Alleviates Mancozeb- mediated Renal Toxicity in a Rat Model Through Combating Inflammation, Oxidative Stress, and Apoptosis. **Egyptian Society of Clinical Toxicology Journal**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 63–78, 1 dez. 2023. <https://doi.org/10.21608/esctj.2023.242827.1043>.

MILLER, Noam; GERLAI, Robert. From Schooling to Shoaling: Patterns of Collective Motion in Zebrafish (*Danio rerio*). **PLoS ONE**, [S. l.], v. 7, n. 11, p. e48865, 14 nov. 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048865>.

MOHIDEEN, Khadijah; CHANDRASEKAR, Krithika; RAMSRIDHAR, Saranya; RAJKUMAR, Chandini; GHOSH, Snehashish; DHUNGEL, Safal. Assessment of

Oxidative Stress by the Estimation of Lipid Peroxidation Marker Malondialdehyde (MDA) in Patients with Chronic Periodontitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **International Journal of Dentistry**, [S. l.], v. 2023, p. 1–16, 30 maio 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/6014706>.

MORALES, Ana I.; RODRÍGUEZ-BARBERO, Alicia; VICENTE-SÁNCHEZ, Cesáreo; MAYORAL, Paula; LÓPEZ-NOVOA, José M.; PÉREZ-BARRIOCANAL, Fernando. Resveratrol inhibits gentamicin-induced mesangial cell contraction. **Life Sciences**, [S. l.], v. 78, n. 20, p. 2373–2377, abr. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.045>.

MOREIRA, Miriam A.; NASCIMENTO, Marcos A.; BOZZO, Tatiana A.; CINTRA, Alvaro; DA SILVA, Sônia M.; DALBONI, Maria A.; MOURO, Margaret G.; HIGA, Elisa M.S. Ascorbic acid reduces gentamicin-induced nephrotoxicity in rats through the control of reactive oxygen species. **Clinical Nutrition**, [S. l.], v. 33, n. 2, p. 296–301, abr. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.05.005>.

MORSY, Mohamed A.; IBRAHIM, Salwa A.; AMIN, Entesar F.; KAMEL, Maha Y.; RIFAAI, Rehab A.; HASSAN, Magdy K. Sildenafil Ameliorates Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats: Role of iNOS and eNOS. **Journal of Toxicology**, [S. l.], v. 2014, p. 1–7, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/489382>.

MUKHERJEE, Sunanda; ISLAM, Shehnaz; SARKAR, Olivia; CHATTOPADHYAY, Ansuman. Oxidative Stress in Kidney of Zebrafish due to Individual and Combined Exposure to Amoxicillin, Arsenic, and Fluoride: Involving Nrf2-Keap1-ARE Pathway. **Journal of Applied Toxicology**, [S. l.], v. 45, n. 6, p. 964–975, jun. 2025. <https://doi.org/10.1002/jat.4763>.

MÜLLER, Talise E.; FONTANA, Barbara D.; BERTONCELLO, Kanandra T.; FRANCESCON, Francini; MEZZOMO, Nathana J.; CANZIAN, Julia; STEFANELLO, Flavia V.; PARKER, Matthew O.; GERLAI, Robert; ROSEMBERG, Denis B. Understanding the neurobiological effects of drug abuse: Lessons from zebrafish models. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 100, p. 109873, jun. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109873>.

NAGAI, Junya; TAKANO, Mikiyoshi. Entry of aminoglycosides into renal tubular epithelial cells via endocytosis-dependent and endocytosis-independent pathways.

Biochemical Pharmacology, [S. l.], v. 90, n. 4, p. 331–337, ago. 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.05.018>.

NAKAŠ-IĆINDIĆ, Emina; AVDAGIĆ, Nesina; MIJANOVIĆ, Mirjana; PRAŠOVIĆ, Senad; ZAČIRAGIĆ, Asija; ZAČIRAGIĆ, Asija; TAHIROVIĆ, Gordan. Nitric Oxide in Gentamicin-induced Acute Tubular Necrosis in Rats. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 70–74, 20 maio 2005.

<https://doi.org/10.17305/bjbms.2005.3288>.

NAMBIAR, Vanisha S; MATELA, Hema. Potential Functions of Lemon Grass (Cymbopogon citratus) in Health and Disease. [S. l.], v. 3, 2010.

NEVES, Precil Diego Miranda De Menezes; SESSO, Ricardo De Castro Cintra; THOMÉ, Fernando Saldanha; LUGON, Jocemir Ronaldo; NASICMENTO, Marcelo Mazza. Brazilian Dialysis Census: analysis of data from the 2009-2018 decade. **Brazilian Journal of Nephrology**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 191–200, jun. 2020.

<https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-2019-0234>.

NEYRA, Javier A.; CHAWLA, Lakhmir S. Acute Kidney Disease to Chronic Kidney Disease. **Critical Care Clinics**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 453–474, abr. 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.ccc.2020.11.013>.

NICULAE, Andrei; GHERGHINA, Mihai-Emil; PERIDE, Ileana; TIGLIS, Mirela; NECHITA, Ana-Maria; CHECHERITA, Ionel Alexandru. Pathway from Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease: Molecules Involved in Renal Fibrosis.

International Journal of Molecular Sciences, [S. l.], v. 24, n. 18, p. 14019, 13 set. 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms241814019>.

NOLIN, Thomas D.; OUSEPH, Rosemary; HIMMELFARB, Jonathan; MCMENAMIN, M. Elizabeth; WARD, Richard A. Multiple-Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of N-Acetylcysteine in Patients with End-Stage Renal Disease. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 1588–1594, set. 2010. <https://doi.org/10.2215/CJN.00210110>.

OECD. **Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test**. [S. l.]: OECD, 18 jun. 2019. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2). DOI: 10.1787/9789264069961-en. Disponível em:

https://www.oecd.org/en/publications/test-no-203-fish-acute-toxicity-test_9789264069961-en.html. Acesso em: 13 maio 2025.

OGI, Asahi; LICITRA, Rosario; NAEF, Valentina; MARCHESE, Maria; FRONTE, Baldassare; GAZZANO, Angelo; SANTORELLI, Filippo M. Social Preference Tests in Zebrafish: A Systematic Review. **Frontiers in Veterinary Science**, [S. l.], v. 7, 22 jan. 2021. DOI: 10.3389/fvets.2020.590057. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2020.590057/full>. Acesso em: 7 jul. 2025.

OHKAWA, Hiroshi; OHISHI, Nobuko; YAGI, Kunio. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3).

OISHI, N; DUSCHA, S; BOUKARI, H; MEYER, M; XIE, J; WEI, G; SCHREPFER, T; ROSCHITZKI, B; BOETTGER, E C; SCHACHT, J. XBP1 mitigates aminoglycoside-induced endoplasmic reticulum stress and neuronal cell death. **Cell Death & Disease**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. e1763–e1763, 14 maio 2015. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.108>.

OLADEJI, Oluwole Solomon; ADELOWO, Funmilayo Enitan; AYODELE, David Temitope; ODELADE, Kehinde Abraham. Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus*: A review. **Scientific African**, [S. l.], v. 6, p. e00137, nov. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00137>.

OLBRICHT, Christoph J.; FINK, Mathias; GUTJAHR, Elisabeth. Alterations in lysosomal enzymes of the proximal tubule in gentamicin nephrotoxicity. **Kidney International**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 639–646, abr. 1991. <https://doi.org/10.1038/ki.1991.76>.

O'REILLY, Molly; YOUNG, Luke; KIRKWOOD, Nerissa K.; RICHARDSON, Guy P.; KROS, Corné J.; MOORE, Anthony L. Gentamicin Affects the Bioenergetics of Isolated Mitochondria and Collapses the Mitochondrial Membrane Potential in Cochlear Sensory Hair Cells. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, [S. l.], v. 13, p. 416, 13 set. 2019. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00416>.

OUTTANDY, Priya; RUSSELL, Claire; KLETA, Robert; BOCKENHAUER, Detlef.

Zebrafish as a model for kidney function and disease. **Pediatric Nephrology**, [S. l.], v. 34, n. 5, p. 751–762, maio 2019. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-3921-7>.

PAPANASTASIOU, Stella A.; BALI, Eleftheria-Maria D.; IOANNOU, Charalampos S.; PAPACHRISTOS, Dimitrios P.; ZARPAS, Kostas D.; PAPADOPOULOS, Nikos T. Toxic and hormetic-like effects of three components of citrus essential oils on adult Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*). **PLOS ONE**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. e0177837, 16 maio 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177837>.

PENG, J.; WAGLE, M.; MUELLER, T.; MATHUR, P.; LOCKWOOD, B. L.; BRETAUD, S.; GUO, S. Ethanol-Modulated Camouflage Response Screen in Zebrafish Uncovers a Novel Role for cAMP and Extracellular Signal-Regulated Kinase Signaling in Behavioral Sensitivity to Ethanol. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 29, n. 26, p. 8408–8418, 1 jul. 2009. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0714-09.2009>.

PETEJOVA, Nadezda; MARTINEK, Arnost; ZADRAZIL, Josef; KANOVA, Marcela; KLEMENTA, Viktor; SIGUTOVA, Radka; KACIROVA, Ivana; HRABOVSKY, Vladimir; SVAGERA, Zdenek; STEJSKAL, David. Acute Kidney Injury in Septic Patients Treated by Selected Nephrotoxic Antibiotic Agents—Pathophysiology and Biomarkers—A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 21, n. 19, p. 7115, 26 set. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21197115>.

PONCE, Daniela; BALBI, Andre. Acute kidney injury: risk factors and management challenges in developing countries. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, [S. l.], v. Volume 9, p. 193–200, ago. 2016. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S104209>.

QIN, Xin; ZHAO, Yan; GONG, Jing; HUANG, Wenya; SU, Hao; YUAN, Fen; FANG, Ke; WANG, Dingkun; LI, Jingbin; ZOU, Xin; XU, Lijun; DONG, Hui; LU, Fuer. Berberine Protects Glomerular Podocytes via Inhibiting Drp1-Mediated Mitochondrial Fission and Dysfunction. **Theranostics**, [S. l.], v. 9, n. 6, p. 1698–1713, 2019. <https://doi.org/10.7150/thno.30640>.

QUIROS, Y.; VICENTE-VICENTE, L.; MORALES, A. I.; LOPEZ-NOVOA, J. M.; LOPEZ-HERNANDEZ, F. J. An Integrative Overview on the Mechanisms Underlying the Renal Tubular Cytotoxicity of Gentamicin. **Toxicological Sciences**, [S. l.], v. 119,

n. 2, p. 245–256, 1 fev. 2011. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq267>.

RADENOVIC, L.; SELAKOVIC, V. Differential effects of NMDA and AMPA/kainate receptor antagonists on nitric oxide production in rat brain following intrahippocampal injection. **Brain Research Bulletin**, [S. l.], v. 67, n. 1–2, p. 133–141, set. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.06.019>.

RAGHU, Ganesh; BERK, Michael; CAMPOCHIARO, Peter A.; JAESCHKE, Hartmut; MARENZI, Giancarlo; RICHELDI, Luca; WEN, Fu-Qiang; NICOLETTI, Ferdinando; CALVERLEY, Peter M. A. The Multifaceted Therapeutic Role of N-Acetylcysteine (NAC) in Disorders Characterized by Oxidative Stress. **Current Neuropharmacology**, [S. l.], v. 19, n. 8, p. 1202–1224, ago. 2021. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666201230144109>.

RAHHAL, Belal; QNEIBI, Mohammad; JARADAT, Nidal; HAWASH, Mohammed; QADI, Mohammad; ISSA, Linda; BDIR, Sosana. Multi-biological activity assessment and phytochemical characterization of an aqueous extract of the *Cymbopogon citratus* grown in Palestine. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 27, 9 jan. 2024. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04338-z>.

RAMSAY, Jennifer M.; FEIST, Grant W.; VARGA, Zoltán M.; WESTERFIELD, Monte; KENT, Michael L.; SCHRECK, Carl B. Whole-body cortisol response of zebrafish to acute net handling stress. **Aquaculture**, [S. l.], v. 297, n. 1–4, p. 157–162, dez. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.08.035>.

RAN, Fei; YANG, Yi; YANG, Lun; CHEN, Shichao; HE, Ping; LIU, Qiting; ZOU, Qingliang; WANG, Dan; HOU, Jixin; WANG, Peijian. Capsaicin Prevents Contrast-Associated Acute Kidney Injury through Activation of Nrf2 in Mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [S. l.], v. 2022, n. 1, p. 1763922, jan. 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/1763922>.

RANDJELOVIĆ, Pavle; VELJKOVIĆ, Slavimir; STOJILJKOVIĆ, Nenad; SOKOLOVIĆ, Dušan; ILIĆ, Ivan. Gentamicin nephrotoxicity in animals: current knowledge and future perspectives. **EXCLI Journal**; **16:Doc388**; ISSN 1611-2156, [S. l.], 2017. DOI: 10.17179/EXCLI2017-165. Disponível em: https://www.excli.de/vol16/Randjelovic_24032017_proof.pdf. Acesso em: 17 set.

2025.

REIN, Philipp; MUELLER, Ruediger B. Treatment with Biologicals in Rheumatoid Arthritis: An Overview. **Rheumatology and Therapy**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 247–261, dez. 2017. <https://doi.org/10.1007/s40744-017-0073-3>.

RIBEIRO-FILHO, Helder Veras; DE SOUZA SILVA, Camila Meirelles; DE SIQUEIRA, Rodrigo José Bezerra; LAHLOU, Saad; DOS SANTOS, Armênio Aguiar; MAGALHÃES, Pedro Jorge Caldas. Biphasic cardiovascular and respiratory effects induced by β -citronellol. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 775, p. 96–105, mar. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.02.025>.

ROJAS-ARMAS, Juan Pedro; ARROYO-ACEVEDO, Jorge Luis; PALOMINO-PACHECO, Miriam; HERRERA-CALDERÓN, Oscar; ORTIZ-SÁNCHEZ, José Manuel; ROJAS-ARMAS, Agustín; CALVA, James; CASTRO-LUNA, Américo; HILARIO-VARGAS, Julio. The Essential Oil of *Cymbopogon citratus* Stapf and Carvacrol: An Approach of the Antitumor Effect on 7,12-Dimethylbenz-[α]-anthracene (DMBA)-Induced Breast Cancer in Female Rats. **Molecules (Basel, Switzerland)**, [S. l.], v. 25, n. 14, p. 3284, 20 jul. 2020. <https://doi.org/10.3390/molecules25143284>.

ROSA, Luiz V.; COSTA, Fabiano V.; CANZIAN, Julia; BORBA, João V.; QUADROS, Vanessa A.; ROSEMBERG, Denis B. Three- and bi-dimensional analyses of the shoaling behavior in zebrafish: Influence of modulators of anxiety-like responses. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 102, p. 109957, ago. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.109957>.

SAFAEIAN, Leila; SAJJADI, Seyed Ebrahim; MONTAZERI, Hossein; OHADI, Farzaneh; JAVANMARD, Shaghayegh. Citral Protects Human Endothelial Cells Against Hydrogen Peroxide-induced Oxidative Stress. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 17, n. 5, p. 549–554, 1 out. 2020. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.71602>.

SALIM, Saima; ALI, Sharique. Vertebrate melanophores as potential model for drug discovery and development: A review. **Cellular and Molecular Biology Letters**, [S. l.], v. 16, n. 1, 1 jan. 2011. DOI: 10.2478/s11658-010-0044-y. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.2478/s11658-010-0044-y/html>. Acesso

em: 26 jun. 2025.

SANTOS, Patrícia; HERRMANN, Ana P.; BENVENUTTI, Radharani; NOETZOLD, Guilherme; GIONGO, Franciele; GAMA, Clarissa S.; PIATO, Angelo L.; ELISABETSKY, Elaine. Anxiolytic properties of N -acetylcysteine in mice. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 317, p. 461–469, jan. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.10.010>.

SARASAMMA, Sreeja; AUDIRA, Gilbert; SAMIKANNU, Prabu; JUNIARDI, Stevhen; SIREGAR, Petrus; HAO, Erwei; CHEN, Jung-Ren; HSIAO, Chung-Der. Behavioral Impairments and Oxidative Stress in the Brain, Muscle, and Gill Caused by Chronic Exposure of C70 Nanoparticles on Adult Zebrafish. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 22, p. 5795, 18 nov. 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20225795>.

SCALERANDI, Esteban; FLORES, Guillermo A.; PALACIO, Marcela; DEFAGÓ, Maria Teresa; CARPINELLA, María Cecilia; VALLADARES, Graciela; BERTONI, Alberto; PALACIOS, Sara María. Understanding Synergistic Toxicity of Terpenes as Insecticides: Contribution of Metabolic Detoxification in *Musca domestica*. **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 9, p. 1579, 30 out. 2018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01579>.

SCHENK, Heiko; DRUMMOND, Iain A. Kidney development, injury and regeneration—Zebrafish. **Current Topics in Developmental Biology**. [S. l.]: Elsevier, 2025. v. 163, p. 307–321. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2025.01.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0070215325000195>. Acesso em: 5 nov. 2025.

SEDLAK, Jozef; LINDSAY, Raymond H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 25, p. 192–205, 1968. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4).

SEVERO DUTRA, Thais; MIGLIORINI PARISI, Mariana. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA DOENÇA RENAL CRÔNICA. **REVISTA INTERDISCIPLINAR DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO**, [S. l.], v. 9, n. 1, p.

237–244, 16 dez. 2021. <https://doi.org/10.33053/revint.v9i1.645>.

SHARMA, Isha; LIAO, Yingjun; ZHENG, Xiaoping; KANWAR, Yashpal S. Modulation of gentamicin-induced acute kidney injury by myo-inositol oxygenase via the ROS/ALOX-12/12-HETE/GPR31 signaling pathway. **JCI Insight**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. e155487, 22 mar. 2022. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.155487>.

SILVA, Hugo Napoleão Pereira Da; CARVALHO, Brenna Celina Ferreira De; MAIA, Janna Laely Dos Santos; BECKER, Alexssandro Geferson; BALDISSEROTTO, Bernardo; HEINZMANN, Berta Maria; MOURÃO, Rosa Helena Veras; SILVA, Lenise Vargas Flores Da. Anesthetic potential of the essential oils of *Lippia alba* and *Lippia organoides* in Tambaqui juveniles. **Ciência Rural**, [S. l.], v. 49, n. 6, p. e20181059, 2019. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20181059>.

SINGLEMAN, Corinna; HOLTZMAN, Nathalia G. Growth and maturation in the zebrafish, *Danio rerio*: a staging tool for teaching and research. **Zebrafish**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 396–406, ago. 2014. <https://doi.org/10.1089/zeb.2014.0976>.

SONG, Xiang-Bin; LIU, Gang; WANG, Zhen-Yong; WANG, Lin. Puerarin protects against cadmium-induced proximal tubular cell apoptosis by restoring mitochondrial function. **Chemico-Biological Interactions**, [S. l.], v. 260, p. 219–231, dez. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.10.006>.

SOUSA, Duaran Lopes De; BANDEIRA, Mary Anne Medeiros; SOARES, Igor Lima; DUQUE, Bruna Ribeiro; COSTA, Mac Dionys Rodrigues Da; VIANA, Glautemberg De Almeida; MAGALHÃES, Emanuel Paula; MENEZES, Ramon Róseo Paula Pessoa Bezerra De; SAMPAIO, Tiago Lima; MARINHO, Márcia Machado; MARTINS, Alice Maria Costa. Cymbopogon citratus Essential Oil Protects Tubular Renal Cells against Ischemia/Reoxygenation Injury - Involvement Nrf2/Keap1 Pathway. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. l.], v. 68, p. e25240758, 2025. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2025240758>.

TAKAO, Keizo; MIYAKAWA, Tsuyoshi. Light/dark Transition Test for Mice. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], n. 1, p. 104, 13 nov. 2006. <https://doi.org/10.3791/104>.

TANG, Tao-Tao; LV, Lin-Li; PAN, Ming-Ming; WEN, Yi; WANG, Bin; LI, Zuo-Lin; WU,

Min; WANG, Feng-Mei; CROWLEY, Steve D; LIU, Bi-Cheng. Hydroxychloroquine attenuates renal ischemia/reperfusion injury by inhibiting cathepsin mediated NLRP3 inflammasome activation. **Cell Death & Disease**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 351, 2 mar. 2018. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0378-3>.

TATEM, Kathleen S.; QUINN, James L.; PHADKE, Aditi; YU, Qing; GORDISH-DRESSMAN, Heather; NAGARAJU, Kanneboyina. Behavioral and Locomotor Measurements Using an Open Field Activity Monitoring System for Skeletal Muscle Diseases. **Journal of Visualized Experiments**, [S. l.], n. 91, p. 51785, 29 set. 2014. <https://doi.org/10.3791/51785>.

TEMITAYO, Gbadamosi Ismail; OLAWANDE, Bamisi; EMMANUEL, Yawson Olushola; TIMOTHY, Arogundade Tolulope; KEHINDE, Ogunrinola; SUSAN, Lewu Folashade; EZRA, Lambe; JOSEPH, Olajide Olayemi. Inhibitory potentials of *Cymbopogon citratus* oil against aluminium-induced behavioral deficits and neuropathology in rats. **Anatomy & Cell Biology**, [S. l.], v. 53, n. 3, p. 342–354, 30 set. 2020. <https://doi.org/10.5115/acb.20.099>.

TENÓRIO, Micaely Cristina Dos Santos; GRACILIANO, Nayara Gomes; MOURA, Fabiana Andréa; OLIVEIRA, Alane Cabral Menezes De; GOULART, Marília Oliveira Fonseca. N-Acetylcysteine (NAC): Impacts on Human Health. **Antioxidants**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. 967, 16 jun. 2021. <https://doi.org/10.3390/antiox10060967>.

TOVAR-PALACIO, Claudia; NORIEGA, Lilia G.; MERCADO, Adriana. Potential of Polyphenols to Restore SIRT1 and NAD⁺ Metabolism in Renal Disease. **Nutrients**, [S. l.], v. 14, n. 3, p. 653, 3 fev. 2022. <https://doi.org/10.3390/nu14030653>.

UMUKORO, Solomon; BEN-AZU, Benneth; AJAYI, Abayomi M.; ADEBESIN, Adaeze; EMOKPAE, Osagie. *Cymbopogon citratus* aqueous leaf extract attenuates neurobehavioral and biochemical changes induced by social defeat stress in mice. **Chinese Herbal Medicines**, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 303–309, jul. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2020.01.002>.

UMUKORO, Solomon; BEN-AZU, Benneth; IYIOLA, Azeez O.; ADEBOYE, Bamboye; AJAYI, Abayomi M.; ADEBESIN, Adaeze; OMOROBGE, Osarume. Evaluation of the anticonvulsant and anxiolytic-like activities of aqueous leaf extract

of *Cymbopogon citratus* in mice. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, [S. l.], v. 31, n. 1, 28 jan. 2020. DOI: 10.1515/jbcpp-2019-0100.

Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jbcpp-2019-0100/html>. Acesso em: 7 jul. 2025.

UMUKORO, Solomon; OGBOH, Somtochukwu; OMOROGBE, Osarume; ADEKEYE, Abdul-lateef; OLATUNDE, Matthew. Evidence for the Involvement of Monoaminergic Pathways in the Antidepressant-Like Activity of *Cymbopogon citratus* in Mice. **Drug Research**, [S. l.], v. 67, n. 07, p. 419–424, jul. 2017. <https://doi.org/10.1055/s-0043-106586>.

VAISHNU DEVI, Durairaj; VISWANATHAN, Pragasam. Sulphated polysaccharide from *Sargassum myriocystum* confers protection against gentamicin-induced nephrotoxicity in adult zebrafish. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S. l.], v. 72, p. 103269, nov. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103269>.

VERMA, Tarawanti; SINHA, Manish; BANSAL, Nitin; YADAV, Shyam Raj; SHAH, Kamal; CHAUHAN, Nagendra Singh. Plants Used as Antihypertensive. **Natural Products and Bioprospecting**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 155–184, abr. 2021. <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00281-x>.

WAN, Yantong; LIU, Jinxi; MAI, Yiyin; HONG, Yinghao; JIA, Zixuan; TIAN, Guijie; LIU, Yunzhuo; LIANG, Huaping; LIU, Jinghua. Current advances and future trends of hormesis in disease. **npj Aging**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 26, 15 maio 2024. <https://doi.org/10.1038/s41514-024-00155-3>.

WANG, Xiaobo; TANG, Yan; XIE, Na; BAI, Jinrong; JIANG, Shengnan; ZHANG, Yi; HOU, Ya; MENG, Xianli. Salidroside, a phenyl ethanol glycoside from *Rhodiola crenulata*, orchestrates hypoxic mitochondrial dynamics homeostasis by stimulating Sirt1/p53/Drp1 signaling. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 293, p. 115278, jul. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115278>.

WANG, Xixin; COPMANS, Daniëlle; DE WITTE, Peter A. M. Using Zebrafish as a Disease Model to Study Fibrotic Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 12, p. 6404, 15 jun. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22126404>.

WU, Siyun; YUAN, Xinyue; TANG, Zexin; ZANG, Kai; WANG, Caibing; LI, Zhiyi; LI, Huangde; YE, Xiyun; DANG, Yongyan. Fast freezing inhibits melanin synthesis of melanocytes by modulating the Wnt/ β -catenin signalling pathway. **Experimental Dermatology**, [S. l.], v. 33, n. 5, p. e15101, maio 2024. <https://doi.org/10.1111/exd.15101>.

YANG, Shun-Min; HUA, Kuo-Feng; LIN, Yu-Chuan; CHEN, Ann; CHANG, Jia-Ming; KUOPING CHAO, Louis; HO, Chen-Lung; KA, Shuk-Man. Citral Is Renoprotective for Focal Segmental Glomerulosclerosis by Inhibiting Oxidative Stress and Apoptosis and Activating Nrf2 Pathway in Mice. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 9, p. e74871, 17 set. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074871>.

YANG, Xiaoping; ZHONG, Hongfei; XU, Chengyun; XU, Gaosi. Spotlights on Antibiotic-induced Acute Kidney Injury: the Evidence to Date. **Iranian Journal of Kidney Diseases**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 10–20, jan. 2019.

YE, Chen-Jun; LI, Sheng-An; ZHANG, Yun; LEE, Wen-Hui. Geraniol targets KV1.3 ion channel and exhibits anti-inflammatory activity in vitro and in vivo. **Fitoterapia**, [S. l.], v. 139, p. 104394, nov. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104394>.

YOON, Soo-Young; KIM, Jin-Sug; JEONG, Kyung-Hwan; KIM, Su-Kang. Acute Kidney Injury: Biomarker-Guided Diagnosis and Management. **Medicina**, [S. l.], v. 58, n. 3, p. 340, 23 fev. 2022. <https://doi.org/10.3390/medicina58030340>.

YOUSUF, Sarwat; EMAD, Shaista; MISBAH UR REHMAN, Mohammad; BATOOL, Zehra; QADEER, Sara; SARFARAZ, Yousra; SHEIKH, Sheeza; SADAF, Sana; PERVEEN, Tahira. Dose Dependent Effects of Lemon Peel Oil on Oxidative Stress and Psychological Behaviors in Rats. **Pakistan Journal of Zoology**, [S. l.], v. 55, n. 4, 2023. DOI: 10.17582/journal.pjz/20211231041242. Disponível em: <http://researcherslinks.com/current-issues/Dose-Dependent-Effects-Lemon-Peel-Oil/20/1/6317/html>. Acesso em: 11 set. 2025.

YUE, Lin; YANG, Ya-Ru; MA, Wen-Xian; WANG, Hong-Yan; FAN, Qian-Wen; WANG, Yue-Yue; LI, Chao; WANG, Jing; HU, Zi-Mu; WANG, Xue-Fu; LI, Feng-He; LIU, Ming-Ming; JIN, Juan; SHI, Chao; WEN, Jia-Gen. Epigallocatechin Gallate Attenuates Gentamicin-Induced Nephrotoxicity by Suppressing Apoptosis and

Ferroptosis. **Molecules**, [S. l.], v. 27, n. 23, p. 8564, 5 dez. 2022.

<https://doi.org/10.3390/molecules27238564>.

ZHANG, Beibei; ZENG, Mengnan; LI, Meng; KAN, Yuxuan; LI, Benke; XU, Ruiqi; WU, Yuanyuan; WANG, Shengchao; ZHENG, Xiaoke; FENG, Weisheng. Protopine Protects Mice against LPS-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting Apoptosis and Inflammation via the TLR4 Signaling Pathway. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 15, 19 dez. 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules25010015>.


ZHANG, Qi; ZHANG, Cong; GE, Jing; LV, Mei-Wei; TALUKDER, Milton; GUO, Kai; LI, Yan-hua; LI, Jin-Long. Ameliorative effects of resveratrol against cadmium-induced nephrotoxicity *via* modulating nuclear xenobiotic receptor response and PINK1/Parkin-mediated Mitophagy. **Food & Function**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 1856–1868, 2020. <https://doi.org/10.1039/C9FO02287B>.

ZHANG, Rui; QIAO, Caili; LIU, Qiuyan; HE, Jingwen; LAI, Yifan; SHANG, Jing; ZHONG, Hui. A Reliable High-Throughput Screening Model for Antidepressant. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 17, p. 9505, 1 set. 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22179505>.

ZHANG, Tingfang; WIDDOP, Robert E.; RICARDO, Sharon D. Transition from acute kidney injury to chronic kidney disease: mechanisms, models, and biomarkers. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, [S. l.], v. 327, n. 5, p. F788–F805, 1 nov. 2024. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00184.2024>.

ANEXO A

CEUA INSTITUTO PARA DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO LTDA IPADE
CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS

 **Unichristus**
Centro Universitário Christus

Of. No. 020/23

Protocolo a CEUA: 020/23

Pesquisador Responsável: JOSÉ EDUARDO RIBEIRO HONÓRIO JÚNIOR

Título do Projeto: EFEITOS NEFROPROTETORES DO EXTRATO DE CYMBOPOGON
CITRATUS NA LESÃO RENAL AGUAL EM ZEBRAFISH

Levamos ao conhecimento de V. Sa que a Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto para
Desenvolvimento da Educação LTDA – IPADE considerou **APROVADO** o projeto supracitado na
reunião do dia 8 (oito) de dezembro de 2023.

Descrição do animal utilizado:

Espécie:

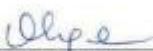
Danio Rerio

Número
Amostral:

114

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEUA/Instituto para Desenvolvimento da
Educação LTDA - IPADE ao término do estudo, período máximo 29/09/2024.

Fortaleza, 02 de outubro de 2025.



Olga Vale Oliveira Machado
Coordenadora

CEUA/Instituto para Desenvolvimento da Educação LTDA - IPADE

ANEXO B

Detalhes do estudo e do tanque									
Dia do Teste/ Observações	Dia 0, 2-3 h	Dia 0, 5-6h	Dia 1, manhã	Dia 1, tarde	Dia 2, manhã	Dia 2, tarde	Dia 3, manhã	Dia 3, tarde	Dia 4, manhã
Tempo aproximado de observação desde o início	2,5 horas	5,5 horas	24 horas	30 horas	48 horas	54 horas	72 horas	78 horas	96 horas
Data / Hora									
Não. peixes vivos no tanque para pontuação									
Nº moribundo* removido após pontuação									
Não. morto removido									
Se nenhuma anormalidade for observada, registre "NAO"									
PERDA DE EQUILÍBRIO									

