

**EFFECTOS SOBRE EL  
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL  
DEL SEVOFLURANO EN  
ANESTESIA PEDIÁTRICA**

Departamento de Pediatría y Puericultura



**Universidad de Granada**



**EFFECTOS SOBRE EL  
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL  
DEL SEVOFLURANO EN  
ANESTESIA PEDIÁTRICA**

**Dña. María Victoria Ramos Ramos**

**Tesis Doctoral de la Universidad de Granada**

**Año 2017**

**Director:**

**Dr. D. Antonio Muñoz Hoyos**

**Departamento de Pediatría y Puericultura**

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autora: María Victoria Ramos Ramos

ISBN: 978-84-9163-333-4

URI: <http://hdl.handle.net/10481/47541>

Dedicada a mis padres, Miguel y Carmen.



## **AGRADECIMIENTOS**

Me gustaría comenzar la escritura de esta tesis doctoral dando las gracias a las generosas personas que han hecho posible lo que a continuación se expone. Me refiero a los niños cuyas muestras sanguíneas hemos analizado y a sus padres, que de manera altruista nos han prestado consentimiento.

En segundo lugar, quisiera dar las gracias al Doctor Don Pablo Mesa Suárez, médico anesthesiólogo, padre intelectual de esta tesis doctoral y que, con sus extraordinarias amabilidad y sensibilidad, se ha encargado, además de la sedación de los pacientes, de la recogida de muestras y de la supervisión de todo el proceso.

Querría seguir dando las gracias a mi director de tesis, el Profesor Doctor Don Antonio Muñoz Hoyos. Él atesora y ha compartido conmigo un bien precioso: experiencia.

He de continuar agradeciendo su labor a los profesionales sanitarios y técnicos del Servicio de Radiología del Hospital de Puerto Real, concretamente a los que participan en la sesión semanal de resonancia pediátrica. También a los directores de la Unidad de Gestión Clínica de Anestesiología y Reanimación del Hospital de Puerto Real, Don David Portilla Huerta, de la Unidad de Radiología, y Don Pablo Navarro Vergara y a los directores de la Unidad de Gestión Clínica de Laboratorio y de Análisis Clínico de los hospitales de Puerto Real y de Jerez (Don Santiago Pérez Ramos y Doña Ángela González García). Todos ellos son eslabones de una cadena que ha sido fuerte de principio a fin.

Tengo que dar la gracias a la Comisión de Investigación y Ética del Hospital Universitario de Puerto Real, accesible y colaboradora con nuestro proyecto. También a la Universidad de Granada, en concreto al personal del Programa de Biomedicina y al Departamento de Pediatría, que han estado siempre cerca a pesar de la distancia.

En último lugar, pero sólo por ser los de más confianza, quiero dar las gracias a mi familia. A mis padres, que me han transmitido, con su ejemplo, el valor del esfuerzo; a mis hermanas y "hermanos", que me acompañan siempre y, en especial, a mi marido, Pablo, y a mis hijos, Guillermo, Sofía y Celia: os he sentido a todos empujándome a concluir este proyecto. Sois lo mejor de mi vida y lo que me mueve a superarme.

**Dr. D. Antonio Muñoz Hoyos**, Catedrático y Profesor Titular de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Univerisdad de Granada,

**CERTIFICA:** Que Dña. María Victoria Ramos Ramos, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado su Trabajo de Investigación Prospectivo para la confección de la Memoria de TESIS DOCTORAL, bajo nuestra dirección sobre el tema: EFECTOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DEL SEVOFLURANO EN ANESTESIA PEDIÁTRICA, la que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido leída y revisada la presente y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

EL DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO,



**Prof. Dr. D. Antonio Muñoz Hoyos**

**En Granada, mayo de 2017**



El doctorando DÑA. MARÍA VICTORIA RAMOS RAMOS y el director de la tesis D.ANTONIO MUÑOZ HOYOS, garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección del director de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Doctorando



Fdo.: Victoria Ramos Ramos

Director

EL DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO,



Fdo.: Antonio Muñoz Hoyos

Granada a 12 de mayo de 2017.



## **Resumen de la Tesis Doctoral**

### **Justificación**

En los últimos quince años se han desarrollado multitud de estudios de investigación acerca de los posibles efectos neurotóxicos de los anestésicos generales. Con los datos obtenidos de estos trabajos, podemos considerar que existe evidencia de que la exposición a anestésicos generales induce daño al tejido cerebral, principalmente mediante activación de apoptosis, si bien hay que reseñar que la gran mayoría de estos datos proceden de trabajos realizados en muestras de tejidos o en animales, y no en humanos, y aún falta por dilucidar si esa lesión cerebral se corresponde con manifestaciones clínicas, o no, y cuáles serían. Por otro lado, de manera más reciente, empiezan a aparecer los primeros trabajos que hablan de que algunos anestésicos generales, especialmente del grupo de los inhalados, podrían ejercer un efecto contrario sobre el sistema nervioso central, es decir, de tipo neuroprotector. Los mecanismos por los cuales estos fármacos inducirían dichos cambios, tanto tóxicos como protectores, son aún en gran parte desconocidos, pudiéndose justificar, por el momento, sólo con modelos hipotéticos.

### **Introducción**

El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar el efecto producido sobre el sistema nervioso central por el sevoflurano inhalado en una muestra de pacientes pediátricos. Para ello empleamos la determinación de la proteína S100B sérica antes y después de una exposición a este fármaco como único agente anestésico. Utilizamos la proteína S100 B

como biomarcador de daño cerebral relacionado con la exposición anestésica. En trabajos previos, nuestro grupo de investigación ha evidenciado un aumento de las cifras de esta proteína tras exponer a niños a combinaciones anestésicas estándares en el contexto de diferentes intervenciones quirúrgicas. Trabajamos con una muestra pediátrica, y no de adultos, porque, en animales de experimentación, se ha demostrado que existe un período de máxima vulnerabilidad del sistema nervioso central, que coincide con las fases de rápido desarrollo del mismo.

### **Pacientes y método**

Tras la aprobación de este proyecto por parte de la Comisión de Ética de la Investigación de nuestro centro de trabajo, se puso en marcha el mismo. Se incluyeron setenta y dos pacientes pediátricos a los que se les había solicitado por parte del Servicio de Pediatría, una resonancia magnética nuclear cerebral bajo anestesia general. La indicación médica en todos ellos fue cefalea. Se informó a los representantes legales de los menores y se obtuvo el necesario consentimiento firmado. Se excluyeron niños con antecedentes de prematuridad, enfermedades neurológicas, hematológicas, hepáticas o renales, tumores de partes blandas y cartílagos o traumatismos extensos en un período previo de 3 meses. También se excluyeron todos los procedimientos urgentes y aquellos cuyas resonancias cerebrales fueron informadas con algún tipo de alteración.

Los pacientes fueron valorados, entre una y dos semanas antes de la cita para resonancia, en la consulta de Preanestesia y se les determinó su concentración basal de proteína S100B (muestra basal, S100Bb). El día de la prueba de imagen, la anestesia se llevó a cabo por parte del Servicio de Anestesiología de nuestro Centro, empleando como fármaco exclusivo el sevoflurano inhalado. La inducción se realizó con una fracción inspiratoria del 8% durante unos segundos y, tras la pérdida de conciencia, se disminuyó al

2-3%, dosis que se mantuvo hasta finalizar la prueba. Previo al despertar de los pacientes, se les extrajo una muestra de sangre venosa (muestra postexposición, S100Bp). Las determinaciones de S100B en laboratorio se llevaron a cabo mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia en el autoanalizador MODULAR E-170 (Roche Diagnostics®), con valores de referencia para la normalidad entre 5 y 105 ng/L.

## **Resultados**

La edad de los 72 pacientes estuvo comprendida entre 2 y 13 años (mediana = 6 años) y la distribución por sexos fue de 30 niñas y 42 niños. En 58 de los 72 pacientes (80,56%) los niveles de proteína S100B sérica disminuyeron tras la exposición al sevoflurano inhalado. Los valores de S100Bp (mediana = 66,5 ng/L) fueron significativamente inferiores ( $p = 0,0059$ ) a los de S100Bb (mediana = 84,0 ng/L). La mediana de las diferencias entre S100Bp y S100Bb resultó  $-11,0$  ng/L. No se halló asociación entre los niveles séricos de S100B, ni basal ni postexposición, con la edad de los niños ni con el sexo.

## **Conclusiones**

El sevoflurano inhalado a dosis bajas produce descenso de la proteína S100B sérica. De este resultado se infiere que dicho fármaco podría tener un efecto neuroprotector a nivel del sistema nervioso central, lo cual iría en consonancia con los resultados de trabajos previos con anestésicos inhalados en animales de experimentación, en los cuales se llega a la conclusión del efecto neuroprotector por otros procedimientos. El supuesto efecto antiapoptótico del sevoflurano abre nuevas líneas de investigación sobre los usos clínicos de este fármaco, tanto en el ámbito de la anestesia como en el de la patología cerebral. Son necesarios más estudios al respecto que confirmen, o no, nuestros hallazgos.

**Palabras clave:**

proteína S100B

anestésicos inhalados

neurotoxicidad

neuroprotección

sevoflurano.

## ABREVIATURAS

APC .....	Condicionamiento con agentes volátiles
Bax .....	Bcl Associated X-protein
Bcl-2 .....	B-cell lymphoma 2
CAM .....	Concentración alveolar mínima
FGF .....	Flujo de gas fresco
FSC .....	Flujo sanguíneo cerebral
EA .....	Enfermedad de Alzheimer
GABA .....	Ácido gamma aminobutírico
GAS study .....	General Anaesthesia Study
IC.....	Intervalo de confianza
kda .....	Kilodalton
kg .....	Kilogramo
LCR .....	Líquido cefalorraquídeo
MASK study .....	Mayo Anaesthesia Safety in Kids
mg .....	Miligramos
ml .....	Mililitros
µg/L .....	Microgramos por litro

ng/L .....	Nanogramos por litro
NMDA.....	N-metil-d-aspartato
PANDA study .....	Pediatric Anaesthesia & Neurodevelopment Assessment
PIGs .....	p 53 Induced Genes
pm .....	Peso molecular
RCP.....	Reanimación cardiopulmonar
ROSC.....	recuperación de la circulación espontánea tras parada cardiorrespiratoria
RAGE.....	Receptor for Advanced Glycation End-products
RI.....	Rango intercuartílico
SD .....	Desviación estándar
SN .....	Sistema nervioso
SNC.....	Sistema nervioso central
SNP.....	Sistema nervioso periférico
TCE .....	Traumatismo Craneoencefálico
VPP .....	Valor Predictivo Positivo

# TABLA DE CONTENIDO

## I. INTRODUCCIÓN

<b>1. CONCEPTOS EN ANESTESIA.....</b>	<b>3</b>
1.1. Definición de anestesia. Tipos.....	3
1.2. Agentes inhalados .....	5
1.2.1. Farmacocinética de los anestésicos inhalatorios .....	7
1.2.2. Concentración alveolar mínima (CAM).....	16
1.2.3. Farmacodinamia de los anestésicos inhalatorios .....	17
1.2.4. Sevoflurano.....	24
a. Propiedades físicas .....	24
b. Mecanismo de acción.....	25
c. Efectos sobre aparatos y sistemas.....	26
c.1. Sobre el sistema nervioso.....	26
c.2. Sobre el sistema cardiocirculatorio .....	27
c.3. Sobre el sistema respiratorio.....	28
c.4. Efectos hepáticos.....	28
c.5. Efectos sobre la función renal .....	29
c.6. Efectos musculares .....	30
c.7. Otros efectos .....	30
d. Reacciones adversas del sevoflurano.....	30
e. Anestésicos inhalatorios y contaminación atmosférica .....	32
<b>2. EFECTOS DE LOS ANESTÉSICOS SOBRE EL SNC.....</b>	<b>33</b>
2.1. SISTEMA NERVIOSO.....	33

2.1.1. Clasificación anatómica .....	33
a. Sistema nervioso central .....	34
b. Sistema nervioso periférico .....	38
2.1.2. Clasificación funcional .....	39
2.2. Desarrollo del sistema nervioso central .....	41
2.2.1. Desarrollo del SNC a nivel macroscópico .....	42
2.2.2. Desarrollo del SNC a nivel microscópico .....	46
a. Fase de generación del SN .....	47
a.1. Inducción de la placa neural: .....	47
a.2. Proliferación neural: .....	47
a.3. Migración, diferenciación y agregación .....	48
a.4. Mielinización .....	49
b. Fase de reorganización .....	49
b.1. Desarrollo de axones y dendritas .....	50
b.2. Formación de sinapsis .....	50
b.3. Muerte neuronal y reordenamiento de sinapsis .....	51
b.4. Modificación de las respuestas a neurotransmisores .....	52
c. Conceptos .....	53
c.1. Plasticidad neuronal .....	53
c.2. Períodos vulnerables .....	53
c.3. Neurogénesis en el adulto .....	53
2.2.3. Células del sistema nervioso central .....	54
a. Las neuronas .....	56
b. Neuroglía .....	59
b.1. Neuroglía en el sistema nervioso central .....	60
b.2. Neuroglía en el Sistema Nervioso Periférico .....	62

2.3. EFECTOS DE LOS ANESTÉSICOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL .....	64
2.3.1. <i>Introducción: el doble efecto de los anestésicos inhalados</i> .....	64
2.3.2. <i>Neurotoxicidad por anestésicos inhalados</i> .....	66
a. Introducción: Neuroapoptosis.....	66
b. Activación de la neuroapoptosis .....	67
c. Las señales apoptóticas .....	69
c.1. Las caspasas .....	69
c.2. La familia Bcl-2 (B-cell lymphoma).....	72
c.3. Los ROS (Reactive Oxygen Species) .....	73
c.4. Las MAPK y los JNKs.....	75
c.5. La p-53 .....	77
d. Neurotoxicidad por anestésicos inhalados en animales de experimentación y humanos.....	79
2.3.3. <i>Neuroprotección por anestésicos inhalados</i> .....	87
a. Introducción: Concepto de “Precondicionamiento”. Precondicionamiento isquémico miocárdico. ....	87
b. Precondicionamiento farmacológico. Precondicionamiento cardíaco por anestésicos inhalados. ....	91
c. Protección por agentes inhalados en otros órganos .....	98
c.1. En el túbulo proximal renal.....	98
c.2. En el hígado .....	99
c.3. En el pulmón.....	100
d. Neuroprotección por agentes inhalados.....	101
e. Neuroprotección y neurotoxicidad: ¿Es posible un modelo compatible con ambos efectos?.....	106
<b>3. MAGNITUD BIOQUÍMICA DE DAÑO CEREBRAL .....</b>	<b>110</b>
3.1. Proteína S-100B.....	110
3.1.1. <i>Estructura química</i> .....	110
3.1.2. <i>Niveles plasmáticos de proteína S100B en población pediátrica</i> .....	113

3.1.3. Acciones de la proteína S100 B.....	116
a. La doble cara de la proteína S100B .....	116
b. Efectos beneficiosos de la proteína S100B en el sistema nervioso .....	117
c. Efectos deletéreos de la proteína S100 B en el sistema nervioso .....	118
3.1.4. Proteína S 100B: contextos clínicos.....	122
a. Traumatismo craneoencefálico .....	122
b. Accidente cerebrovascular .....	124
c. Epilepsia .....	125
d. Encefalopatía hipóxico isquémica .....	125
e. Infecciones del SNC .....	126
f. Esclerosis múltiple.....	127
g. Esquizofrenia .....	129
h. Migraña .....	130
i. Enfermedad de Alzheimer .....	132
j. Parada cardiorrespiratoria e Infarto de miocardio.....	133
k. Síndrome de Down .....	135
l. Otros contextos .....	136
m. Leche materna.....	136
3.2. Resonancia Magnética Nuclear .....	138
3.2.1. Fundamentos físicos básicos.....	138
3.2.2. Equipos y antenas .....	144
3.2.3. Los planos anatómicos.....	145
3.2.4. Procedimiento.....	146

## **II. HIPÓTESIS**

<b>1. HIPÓTESIS</b> .....	<b>151</b>
---------------------------	------------

## **III. OBJETIVOS**

<b>1. OBJETIVOS</b> .....	<b>155</b>
---------------------------	------------

1.1. Objetivo principal .....	155
-------------------------------	-----

1.2. Objetivos secundarios .....	155
----------------------------------	-----

## **IV. MATERIAL Y MÉTODOS**

<b>1. INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>159</b>
-----------------------------------------------------------------	------------

<b>2. CRONOGRAMA</b> .....	<b>160</b>
----------------------------	------------

<b>3. AMBITO DEL ESTUDIO</b> .....	<b>161</b>
------------------------------------	------------

<b>4. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA</b> .....	<b>164</b>
-----------------------------------------------------------	------------

<b>5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.</b> .....	<b>165</b>
-----------------------------------------------------	------------

5.1. Criterios de inclusión .....	165
-----------------------------------	-----

5.2. Criterios de exclusión .....	165
-----------------------------------	-----

<b>6. INTERVENCIÓN CLÍNICA</b> .....	<b>166</b>
--------------------------------------	------------

6.1. EXPOSICIÓN A SEVOFLURANO .....	166
-------------------------------------	-----

6.2. REALIZACIÓN DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR CRANEAL.....	166
---------------------------------------------------------------	-----

6.3. DETERMINACIÓN DE S100 B EN SANGRE PRE Y POSTEXPOSICIÓN .....	166
-------------------------------------------------------------------	-----

<b>7. DESCRIPCIÓN DEL CIRCUITO DEL PACIENTE DESDE QUE ENTRA A FORMAR PARTE DEL ESTUDIO HASTA SU SALIDA DEL MISMO.</b> .....	<b>167</b>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------

7.1. <i>Visita en la consulta de preanestesia. Muestra 1.</i> .....	167
---------------------------------------------------------------------	-----

7.2. <i>Recepción en la sala de Pediatría de Hospital De Día Quirúrgico.</i> .....	168
------------------------------------------------------------------------------------	-----

7.3. Traslado a la sala de RMN. La resonancia magnética nuclear. Muestra 2.....	169
7.5. Recuperación completa del nivel de consciencia.....	171
7.6. Adaptación al medio en la sala de Pediatría del Hospital De Día Quirúrgico. ....	172
7.7. Alta a domicilio con hoja de instrucciones al alta.....	172
8. MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	173
8.1. Estadística descriptiva. ....	175
8.1.1. Variable Dependiente: PROTEINA S100B .....	175
8.1.2. Variables Independientes:.....	175
8.2. Estadística inferencial.....	177
8.2.1. Test de contraste de hipótesis .....	178
8.2.2. Test de correlación estadística .....	179

## **V. RESULTADOS**

<b>1. ESTADISTICA DESCRIPTIVA.....</b>	<b>184</b>
1.1. EDAD Y GÉNERO .....	184
1.2. PROTEÍNA S100B BASAL .....	188
1.3 PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN .....	192
1.4. VARIACIÓN PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN VS BASAL (S100B P-B) .....	196
<b>2. TEST DE CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES (RHO DE SPEARMAN) .....</b>	<b>200</b>
2.1 EDAD Y PROTEÍNA S100B BASAL .....	200
2.2 EDAD Y PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN .....	200
2.3 PROTEÍNA S100B BASAL Y PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN .....	200
<b>3. TEST DE ASOCIACIÓN (WILCOXON PARA MUESTRAS APAREADAS) .....</b>	<b>202</b>

## **VI. DISCUSIÓN**

<b>1. DISCUSIÓN.....</b>	<b>207</b>
1.1. Efectos de los anestésicos inhalados sobre el sistema nervioso central: ¿Neurotoxicidad o neuroprotección? ¿Dónde estamos? .....	207
1. 2. Nuestros resultados .....	212

## **VII. CONCLUSIONES**

<b>1. CONCLUSIONES .....</b>	<b>217</b>
------------------------------	------------

## **VIII. ANEXOS**

<b>1. MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....</b>	<b>221</b>
<b>2. DIFUSIÓN .....</b>	<b>223</b>
1. Publicaciones en revistas relacionadas con la materia .....	223
2. Comunicaciones en reuniones científicas. ....	224

## **IX. BIBLIOGRAFÍA**



# ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<i>Figura 1. Tipos de anestesia</i> .....	4
<i>Figura 2. Recorrido del agente anestésico inhalado</i> .....	5
<i>Figura 3. Clasificación de los agentes anestésicos inhalados</i> .....	6
<i>Figura 4. Estructura molecular de los agentes anestésicos inhalados</i> .....	7
<i>Figura 5. Esquema de una máquina anestésica</i> .....	8
<i>Figura 6. Factores de la velocidad de paso del anestésico a la sangre</i> .....	12
<i>Figura 7. Captación de un anestésico por los diferentes tejidos</i> .....	14
<i>Figura 8. Ejemplo de mecanismo de acción de los anestésicos</i> .....	19
<i>Figura 9. Mecanismos sistémicos y moleculares de la anestesia general</i> .....	23
<i>Figura 10. Presentaciones del anestésico sevoflurano</i> .....	24
<i>Figura 11. Distribución de sustancia gris y blanca en el cerebro y en la médula</i> .....	34
<i>Figura 12. Disposición de los somas de las neuronas en la médula espinal</i> .....	35
<i>Figura 13. Circuitos sensitivo, de la información y motor</i> .....	36
<i>Figura 14. Ubicación de funciones en el sistema nervioso central</i> .....	37
<i>Figura 15. Esquema de situación de nervios espinales</i> .....	38
<i>Figura 16. Estructuras nerviosas encargadas en las funciones voluntarias e involuntarias</i> .....	40
<i>Figura 17. Desarrollo del sistema nervioso central en el ser humano</i> .....	41
<i>Figura 18. Fases del desarrollo embrionario humano</i> .....	43
<i>Figura 19. Desarrollo del sistema nervioso humano</i> .....	44
<i>Figura 20. Etapas del desarrollo del cerebro humano</i> .....	45
<i>Figura 21. Proliferación neural (1)</i> .....	47
<i>Figura 22. Proliferación neuronal (2)</i> .....	48
<i>Figura 23. Mielinización del axón de una neurona</i> .....	49
<i>Figura 24. Sinaptogénesis</i> .....	50
<i>Figura 24. Limitación del crecimiento neuronal</i> .....	52

<i>Figura 26. Acontecimientos en el desarrollo del sistema nervioso central humano.</i> .....	54
<i>Figura 27. Evolución del epitelio neural.</i> .....	55
<i>Figura 28. Microglías inactivas y activadas (fagocitosis).</i> .....	56
<i>Figura 29. La neurona.</i> .....	58
<i>figura 30. Oligodendrocitos.</i> .....	60
<i>Figura 31. Las células de la neuroglía: astrocito, microglía y células endoteliales.</i> .....	61
<i>Figura 32. Barrera hematoencefálica.</i> .....	62
<i>Figura 33. Estructura de la célula de Schwann.</i> .....	63
<i>Figura 34. Vías intrínseca y extrínseca para la activación de la neuroapoptosis.</i> .....	68
<i>Figura 35. Vía extrínseca de activación de las caspasas.</i> .....	70
<i>Figura 36. Vía intrínseca de activación de las caspasas.</i> .....	71
<i>Figura 37. Apoptosis iniciada por la familia Bcl-2.</i> .....	73
<i>Figura 38. Especies reactivas de oxígeno (ROS).</i> .....	74
<i>Figura 39. Señalización de la muerte celular por ROS.</i> .....	74
<i>Figura 38. Señalización de la célula mediante ASK-1 inducida por ROS.</i> .....	75
<i>Figura 41. La MAPKs en amplificación de señales, expresión genética y ciclo celular.</i> .....	76
<i>Figura 42. La MAPKs en distintos procesos celulares, incluida apoptosis.</i> .....	77
<i>Figura 43. Mecanismos de actuación propuestos para la proteína p53.</i> .....	78
<i>Figura 44. Vías intrínseca y extrínseca de activación de apoptosis.</i> .....	79
<i>Figura 45. Cortes histológicos cerebrales al microscopio electrónico.</i> .....	80
<i>Figura 46. Aumento de la actividad caspasa 3 tras exposición a sevoflurano.</i> .....	82
<i>Figura 47. Modelo bioquímico general para el preconditionamiento isquémico miocárdico.</i> .....	89
<i>Figura 48. Mecanismos biomoleculares en cardioprotección por preconditionamiento isquémico.</i> .....	90
<i>Figura 49. Tamaño del infarto de miocardio en los perros control y expuestos a sevoflurano.</i> .....	92
<i>Figura 50. Niveles de troponina en pacientes sometidos a cirugía cardíaca con propofol y sevoflurano.</i> .....	93
<i>Figura 51. Modelo bioquímico para preconditionamiento isquémico miocárdico por canales de potasio.</i> .....	96
<i>Figura 52. Modelo bioquímico para preconditionamiento isquémico miocárdico por inhibición de RLO.</i> .....	97

<i>Figura 53. Mecanismo teórico citoprotector del sevoflurano en el túbulo proximal renal. ....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 54. Niveles de AST en ratas en tres grupos: control, con APC y con IPC. ....</i>	<i>100</i>
<i>Figura 55. Niveles de pERK en grupo Co, LPS, Sevo y LPS+Sevo. ....</i>	<i>101</i>
<i>Figura 56. Condiciones de isquemia cerebral global que induce muerte celular grave. ....</i>	<i>104</i>
<i>Figura 57. Activación de la AKT1 y de la caspasa 3. Pretratamiento con sevoflurano. ....</i>	<i>104</i>
<i>Figura 58. Mecanismos antiapoptóticos de neuroprotección por sevoflurano. ....</i>	<i>105</i>
<i>Figura 59. Los anestésicos inhalados inducirían neuroprotección y neurotoxicidad ....</i>	<i>107</i>
<i>Figura 60. Vías implicadas en los efectos neurotóxicos y neuroprotectores de los agentes anestésicos. ....</i>	<i>108</i>
<i>Figura 61 Representación del dominio tipo mano E-F de la proteína S100B. ....</i>	<i>112</i>
<i>Figura 62. Concentraciones plasmáticas de la proteína S100B en niños según gazzolo y cols. ....</i>	<i>114</i>
<i>Figura 63. Concentraciones de la proteína S100 sérica en función de la edad. ....</i>	<i>115</i>
<i>Figura 64. Análisis de regresión y análisis de regresión lineal. ....</i>	<i>115</i>
<i>figura 65. Concentraciones medias de S100B sérica por grupos de edad. ....</i>	<i>116</i>
<i>Figura 66. S100B promueve la supervivencia neuronal y estimula el crecimiento de las neuritas. ....</i>	<i>117</i>
<i>Figura 67. Cambios morfológicos en las neuronas y disminución de su número, inducidos por S100B. ....</i>	<i>120</i>
<i>Figura 68. Controles: significación estadística según test de Main-Whitney ....</i>	<i>128</i>
<i>Figura 66. Systematic review and meta-analysis of circulating S100B blood levels in schizophrenia. ....</i>	<i>130</i>
<i>Figura 70. Resultados contradictorios de niveles de S100B en pacientes afectados de migraña. ....</i>	<i>131</i>
<i>Figura 71. Mecanismos de acción de la proteína s100b en el tejido miocárdico. ....</i>	<i>135</i>
<i>Figura 72. Citocinas en la leche de mujeres chinas en los días 3, 10 y 30 después del parto. ....</i>	<i>137</i>
<i>Figura 73. Fundamentos físicos de la resonancia magnética. ....</i>	<i>139</i>
<i>Figura 74. Generación del campo magnético en la resonancia magnética nuclear. ....</i>	<i>140</i>
<i>figura 75. Vector de magnetización neto. ....</i>	<i>141</i>
<i>figura 76. Principios físicos de las imágenes en T1 y T2 de la resonancia magnética. ....</i>	<i>142</i>
<i>figura 77. Imagen en T1 y T2 de las distintas estructuras corporales. ....</i>	<i>144</i>
<i>Figura 78. Zona de resonancia magnética del Hospital Universitario de Puerto Real. ....</i>	<i>145</i>
<i>figura 79. Planos principales de resonancia magnética craneal. ....</i>	<i>146</i>

<i>Figura 80. Antena para la resonancia magnética craneal. ....</i>	<i>146</i>
<i>Figura 81. Datos poblacionales del INE (1900-2016) de la provincia de Cádiz.....</i>	<i>161</i>
<i>Figura 82. Tasa bruta de natalidad para Andalucía y para la provincia de Cádiz.....</i>	<i>162</i>
<i>Figura 83. Población de Andalucía, por provincias, nacionalidad y grupos de edad. ....</i>	<i>162</i>
<i>Figura 84. Mapa sanitario de la provincia de Cádiz. ....</i>	<i>163</i>
<i>figura 85. Extracción de una muestra sanguínea para analítica. ....</i>	<i>168</i>
<i>figura 86. Mascarilla laríngea Aura Gai de Ambú. ....</i>	<i>170</i>
<i>Figura 87. Pulsioxímetro Nonin N-7500 FO. ....</i>	<i>171</i>
<i>figura 88. Catéter i y BD Insyte Autoquard. ....</i>	<i>171</i>
<i>figura 89. Coeficientes de correlación. ....</i>	<i>179</i>

# I. INTRODUCCIÓN



# 1. CONCEPTOS EN ANESTESIA

## 1.1. DEFINICIÓN DE ANESTESIA. TIPOS.

El término "anestesia" deriva de la palabra griega αναισθησία (anaisthisía), compuesta por el prefijo "an", que significa "sin", y la raíz "aesthesia", que significa "sensación". Se define como la "privación completa o reducción de la sensibilidad de un organismo". Al hablar de "sensibilidad" se incluyen todos los tipos de sensibilidad periférica, es decir, la táctil, la térmica y la dolorosa. Cuando nos referimos solo a la supresión de la sensibilidad dolorosa hablamos del subconcepto "analgesia".

El interés médico en obtener anestesia radica en la posibilidad de intervenir sobre la integridad del cuerpo humano sin ocasionar dolor. Esta intervención, que originalmente consistió en la realización de cirugías abiertas, en nuestros días ha experimentado una enorme diversificación, generalizándose el uso de la anestesia en otros ámbitos muy diversos, como la realización de pruebas de imagen, de procedimientos invasivos, de curas o reducciones de fracturas que pueden resultar dolorosas, de cirugía mínimamente invasiva, etc.

Podemos distinguir dos grandes tipos de anestesia: general y locorregional.<sup>1 2 3 4</sup>

5

La *anestesia general* es la conocida habitualmente como "anestesia" sin más. Es la que afecta a la sensibilidad de todo el organismo y siempre conlleva una pérdida o al menos una gran disminución del nivel de consciencia y, asociada a ésta, una depresión o incluso supresión de la actividad respiratoria, por lo que los pacientes sometidos a este procedimiento suelen precisar algún tipo de soporte ventilatorio.

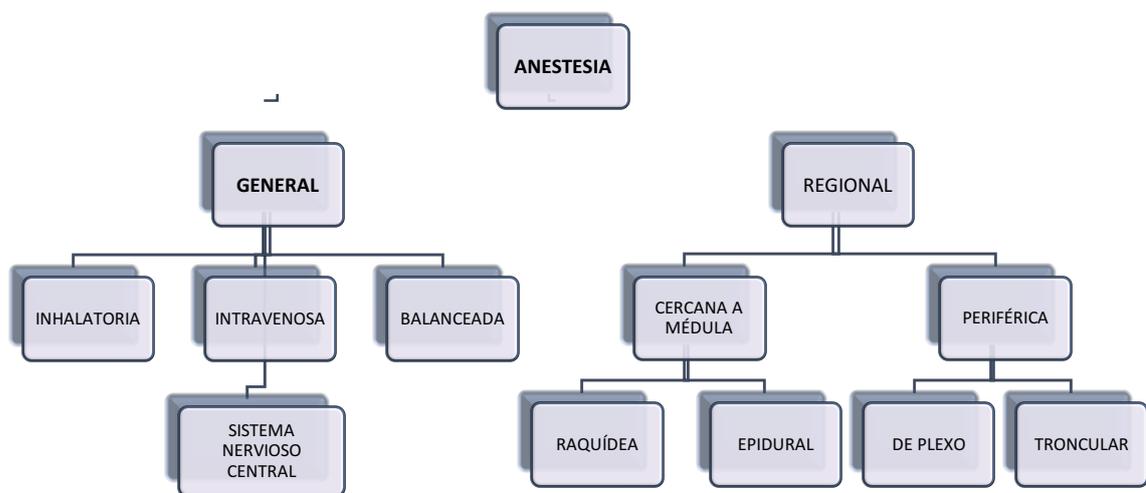
Para su consecución, el anestesista utiliza fármacos que actúan sobre el sistema

nervioso central (médula espinal y encéfalo) y, dependiendo de si se administran por vía exclusivamente inhalatoria, por vía intravenosa o bien por una combinación de ambas, distinguimos tres modalidades de anestesia general: *inhalatoria*, *intravenosa* y *balanceada*.

La *anestesia locorregional*, a diferencia de la anterior, limita su efecto a una determinada zona del organismo y preserva la consciencia y la respiración espontánea. Utiliza fármacos específicos denominados "anestésicos locales", que no se administran de forma sistémica, sino que se aplican en la proximidad de estructuras nerviosas para provocar en ellas un bloqueo de la generación y/o de la transmisión de la sensibilidad.

En función de la estructura nerviosa sobre la que actúan los anestésicos se habla de dos tipos de anestesia locorregional:

1. *Bloqueo nervioso central*: es la anestesia regional próxima a la médula espinal. Incluye la anestesia raquídea, la epidural y la caudal o sacra.
2. *Bloqueo nervioso periférico*: es la que se realiza sobre plexos o troncos nerviosos concretos.



En algunas situaciones puede ser beneficioso utilizar conjuntamente técnicas de

Figura 1. Tipos de anestesia.

anestesia general y de anestesia locorregional, ayudando esta última a controlar el dolor, bien durante la propia intervención quirúrgica, bien en el postoperatorio. Esta modalidad se denomina *anestesia combinada* y no debe confundirse con la anteriormente descrita anestesia balanceada, que se refiere al uso simultáneo de agentes inhalados e intravenosos, ambos de acción central.

## 1.2. AGENTES INHALADOS

Al hablar de anestésicos inhalados hacemos referencia a todas aquellas sustancias con efecto anestésico que pueden ser administradas al paciente por vía inhalatoria, es decir, que penetran por la vía aérea, llegan hasta el pulmón y, a partir del mismo, al torrente sanguíneo, por el que se distribuyen a toda la anatomía.

Son fármacos utilizados para la anestesia general, de manera que permiten, en mayor o menor grado, inconsciencia, analgesia, amnesia, inmovilidad y supresión de la respuesta autonómica a la cirugía.

Desde el punto de vista bioquímico, se trata de un grupo heterogéneo que incluye tanto gases (orgánicos e inorgánicos) como compuestos halogenados. Bajo el término “halogenados” incluimos a diferentes moléculas que

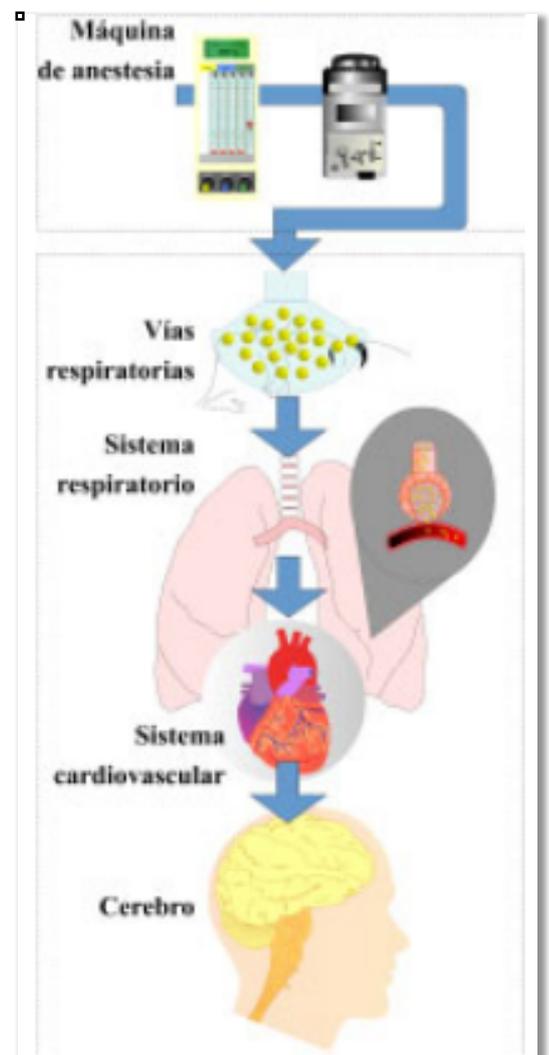


Figura 2. Recorrido del agente anestésico inhalado.

contienen en su composición un halógeno. Los halógenos son un grupo de 5 elementos químicos clasificados en la tabla periódica dentro del grupo 17 que incluye: Flúor (F), Cloro (Cl), Bromo (Br), Yodo (I) y Astatato (At). Reciben su nombre de su capacidad para formar sales (en griego, “hals”, sal, y “genes”, inicio).

La clasificación más extendida de los agentes anestésicos inhalados es la siguiente, que parte de dos grupos principales: los gases y los halogenados:

HALOGENADOS		
	FLUORADOS	NO FLUORADOS
TIPO ÉTER	Isoflurano	Cloruro de etilo
	Sevoflurano	
	Desflurano	
HIDROCARBUROS	Halotano	Cloroformo
		Tricloroetileno
GASES ANESTÉSICOS		
INORGÁNICOS	Óxido Nitroso (N <sub>2</sub> O)	
ORGÁNICOS	Ciclopropano	

*Figura 3. Clasificación de los agentes anestésicos inhalados.*

En realidad, solo algunos son verdaderos gases; la mayoría de los agentes anestésicos inhalatorios son éteres o hidrocarburos halogenados y, a temperatura ambiente y presión atmosférica, son líquidos. Necesitan ser sometidos a grandes temperaturas para convertirse en vapor y de esta forma ser inhalados por el paciente.

Los más utilizados en la actualidad son óxido nitroso, halotano, enflurano, isoflurano, sevoflurano y desflurano y estas son sus estructuras moleculares:

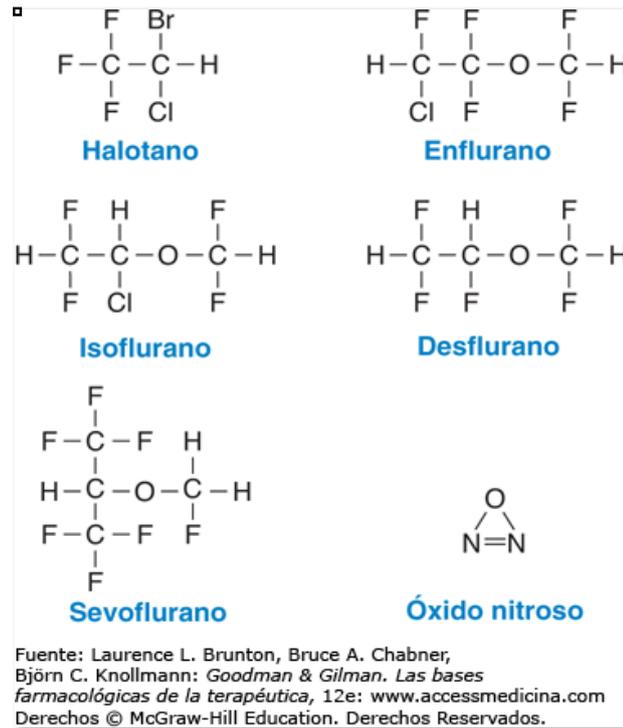


Figura 4. Estructura molecular de los agentes anestésicos inhalados.

### 1.2.1. FARMACOCINÉTICA DE LOS ANESTÉSICOS INHALATORIOS <sup>6 7</sup>

La farmacocinética de los anestésicos inhalatorios hace referencia a la absorción de estos agentes a nivel del alveolo, a su paso a la circulación sistémica y, a través de ella, a todo el organismo y, finalmente, a la eliminación del anestésico, fundamentalmente por vía respiratoria y en algún grado también por metabolismo hepático. A continuación, definiremos brevemente estos pasos.

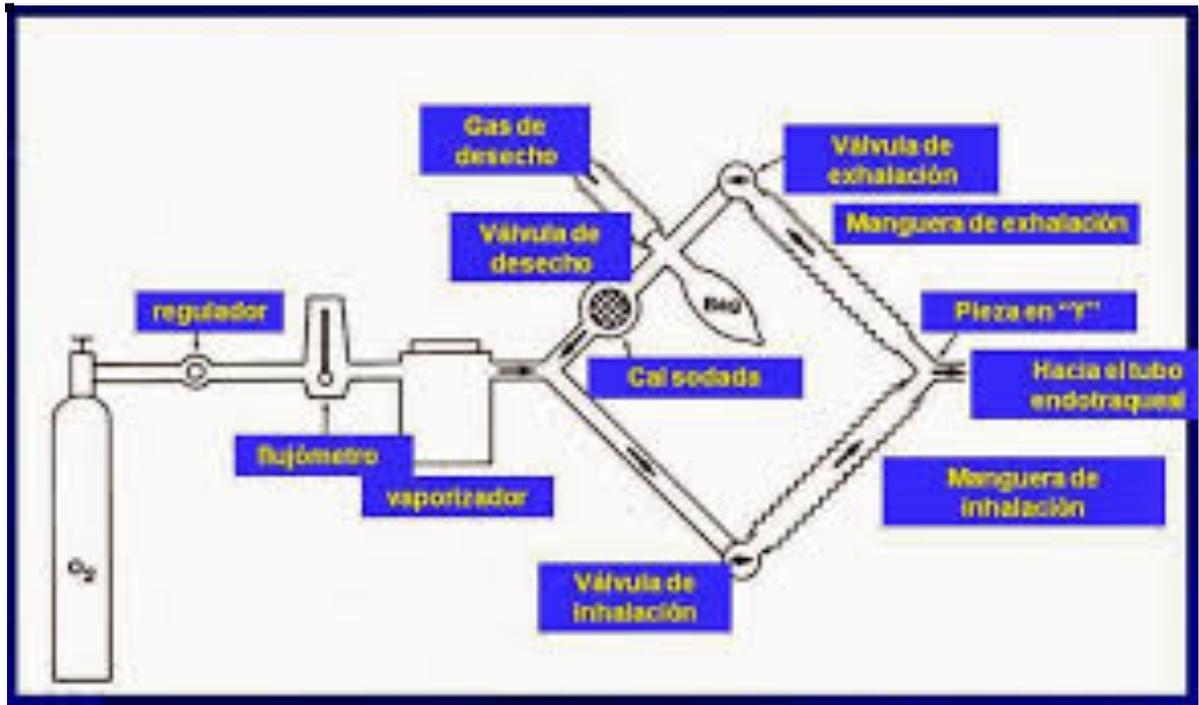


Figura 5. Esquema de una máquina anestésica.

Como ya hemos apuntado, a excepción de los agentes gaseosos anteriormente descritos, los fármacos anestésicos utilizados en la práctica clínica son líquidos, de manera que han de ser sometidos a altas presiones para que se conviertan en gas. Este efecto se consigue mediante el uso de unos vaporizadores específicos para cada anestésico y que se acoplan a las máquinas de anestesia. El agente es vehiculado mediante unas tubuladuras hacia el paciente, mezclado con aire y oxígeno, denominándose a esta mezcla *flujo de gas fresco* (FGF).

La máquina de anestesia proporciona el agente anestésico a una determinada presión parcial inspiratoria. Éste llega hasta el alveolo, atraviesa la membrana alveolocapilar y pasa a la sangre, con la cual se distribuye por los diferentes órganos y tejidos del organismo, entre ellos el cerebro. Cuando, a nivel del tejido cerebral, alcanza una saturación suficiente como para inducir el efecto deseado, es decir, la analgesia, decimos que ha alcanzado una *presión parcial cerebral* adecuada. Si el tiempo de

administración del anestésico se prolonga, las presiones parciales del anestésico en los diferentes tejidos tenderán a igualarse a la *presión parcial alveolar*. De esa manera podemos suponer que, manejando la presión alveolar del anestésico, controlamos su presión parcial cerebral y, en la práctica clínica, utilizar la presión alveolar como forma de dosificación del fármaco.

Definimos como *fase de equilibrio* del anestésico al momento en el cual la presión parcial del mismo en el sistema nervioso central es igual a su presión parcial sanguínea y ésta, a su vez, igual a la alveolar.

Es fácil entender que, a *grosso modo*, la presión parcial alveolar de un anestésico inhalatorio está determinada por la cantidad de anestésico que entra al alveolo y la cantidad de anestésico que sale de él. Desgranaremos a continuación estos conceptos, así como los factores principales que los regulan, que son:

1. La cantidad de anestésico que entra al alveolo. Dependerá de:

- La presión parcial inspiratoria
- La ventilación alveolar
- Otros efectos como el de segundo gas.

2. La cantidad de anestésico que sale del alveolo: captación sanguínea del anestésico.

Dependerá de:

- La solubilidad del anestésico en sangre:

coeficiente de partición sangre/gas ( $\lambda_{\text{sangre/gas}}$ )

- El gasto cardíaco
- La captación del anestésico por los tejidos:

gradiente alveolo-venoso de la presión parcial del anestésico.

Es fácil entender que, a mayor presión parcial inspiratoria del agente administrado por la máquina de anestesia, se alcanzará una mayor presión parcial alveolar y más rápidamente. A esto se le denomina *efecto concentración*.

Por otro lado, un aumento de la ventilación alveolar transporta mayor cantidad de anestésico a los pulmones, por lo que debe relacionarse con un incremento de la presión alveolar, si bien es cierto que, en la práctica clínica, este efecto es poco importante en los agentes que son poco solubles en sangre, entre ellos el sevoflurano.

Otro factor que aumenta la presión alveolar de un anestésico inhalatorio es el llamado *efecto del segundo gas*: generalmente se refiere al óxido nitroso combinado con un agente inhalatorio. Dado que el óxido nitroso no es soluble en sangre, su rápida acumulación dentro del alveolo ocasiona una pérdida de volumen que se asocia con una mayor concentración del otro agente anestésico administrado.

En cuanto a la *salida del gas del alveolo*, la captación sanguínea del agente anestésico inhalado es el principal factor a la hora de determinar el ascenso y el mantenimiento de la presión alveolar, de manera que, a mayor paso de anestésico a la sangre, menor presión alveolar alcanzada o mantenida.

Analizando este concepto, la *captación sanguínea del anestésico*, a su vez, estará influida por diversos factores:

- La solubilidad del anestésico en sangre: coeficiente de partición sangre/gas ( $\lambda_{\text{sangre/gas}}$ ).
- El gasto cardíaco.
- La captación del anestésico por los tejidos (Gradiente alveolo-venoso de la presión parcial del anestésico).

Se explican a continuación brevemente:

*Solubilidad del anestésico en sangre:*

Las solubilidades relativas de un agente anestésico inhalado en aire, en sangre o en tejido se expresan mediante *coeficientes de partición*. El coeficiente de partición entre dos medios 1 y 2 ( $\lambda_{1/2}$ ) es el cociente entre el número de moléculas de un gas en los dos medios cuando se han equilibrado las presiones parciales entre ellos. Por ejemplo: el  $\lambda_{\text{sangre/gas}}$  del halotano es 2,54. Esto significa que, una vez igualadas las presiones parciales entre la sangre y el alveolo, cada mililitro de sangre contiene 2,54 moléculas más de halotano que cada mililitro de gas alveolar. El halotano es, por lo tanto, un anestésico soluble en sangre. Los  $\lambda_{\text{sangre/gas}}$  del sevoflurano y desflurano son 0,69 y 0,42, respectivamente, lo que significa que, cuando se han igualado las presiones parciales entre la sangre y el alveolo, cada mililitro de sangre contiene menos moléculas de estos halogenados que un mililitro de gas alveolar. Sevoflurano y desflurano son, por lo tanto, anestésicos muy poco solubles en sangre.

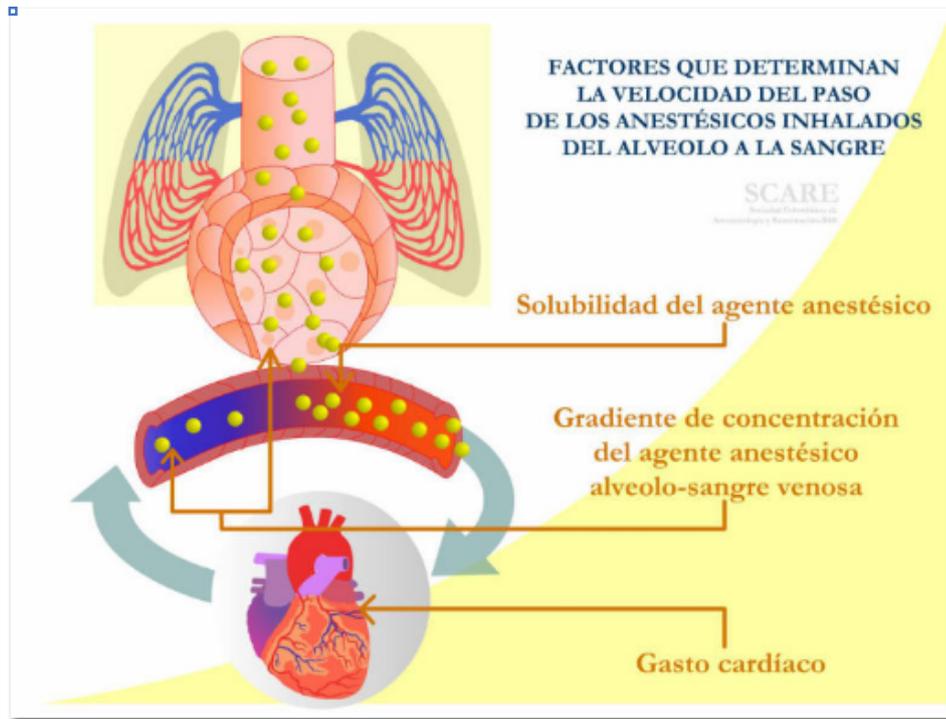


Figura 6. Factores de la velocidad de paso del anestésico a la sangre.

Cuanto menor es el  $\lambda_{\text{sangre/gas}}$ , menor número de moléculas de estos anestésicos se necesitan para saturar la sangre, haciendo más rápido el aumento de la presión parcial alveolar y la inducción anestésica.

#### Gasto cardíaco

A mayor gasto cardíaco, mayor lavado del anestésico del alveolo, es decir menor presión alveolar. Por el contrario, los estados de bajo gasto predisponen al paciente a la sobredosificación por inhalados. Este efecto es tanto más importante cuanto mayor sea el  $\lambda_{\text{sangre/gas}}$ , es decir, la solubilidad en sangre del anestésico, por lo que, en el caso del sevoflurano, el papel del gasto cardíaco es poco relevante.

### *Captación del anestésico por los tejidos*

Se expresa mediante el gradiente alveolo-venoso de presión parcial del anestésico: a mayor captación del anestésico por los tejidos (mayor gradiente alveolo-venoso), menor presión parcial alveolar.

El factor principal a la hora de determinar la captación de un anestésico por un tejido es el flujo sanguíneo de este tejido. En este sentido podemos clasificar los diferentes tejidos del organismo en tres grandes grupos en función del mayor o menor flujo sanguíneo que reciben.

- I. Grupo muy vascularizado (cerebro, riñón, pulmones, hígado y corazón): con sólo un 10% de la masa corporal recibe el 75% del gasto cardíaco.
- II. Grupo muscular: constituye el 50% de la masa corporal y recibe un 20% del gasto cardíaco.
- III. Compartimento graso: representa el 20% de la masa corporal y recibe sólo un 5% del gasto cardíaco.

Además, cada tejido presentará una solubilidad (coeficiente de partición tejido/sangre,  $\lambda_{\text{tejido/sangre}}$ ) diferente, una constante de tiempo (tiempo durante el cual la captación del anestésico disminuye al 63%) específica y una semivida del agente (tiempo durante el cual la captación se reduce al 50%) concreta que también ejercerán su influencia.

La diferente distribución del flujo sanguíneo a los distintos tejidos del organismo resulta esencial para comprender el comportamiento de los agentes anestésicos inhalados durante el acto anestésico: Al recibir unos tejidos concretos (cerebro, riñón, pulmones, hígado y corazón) un porcentaje muy alto del gasto cardíaco, van a captar, durante los primeros minutos de exposición al fármaco, una gran cantidad del mismo.

Como además estos tejidos representan un volumen corporal pequeño, rápidamente se alcanzará un equilibrio entre los tejidos y la sangre. Esto puede ocurrir en pocos minutos (de 2 a 8), dependiendo del agente, y es lo que se denomina en anestesia *período de inducción*.

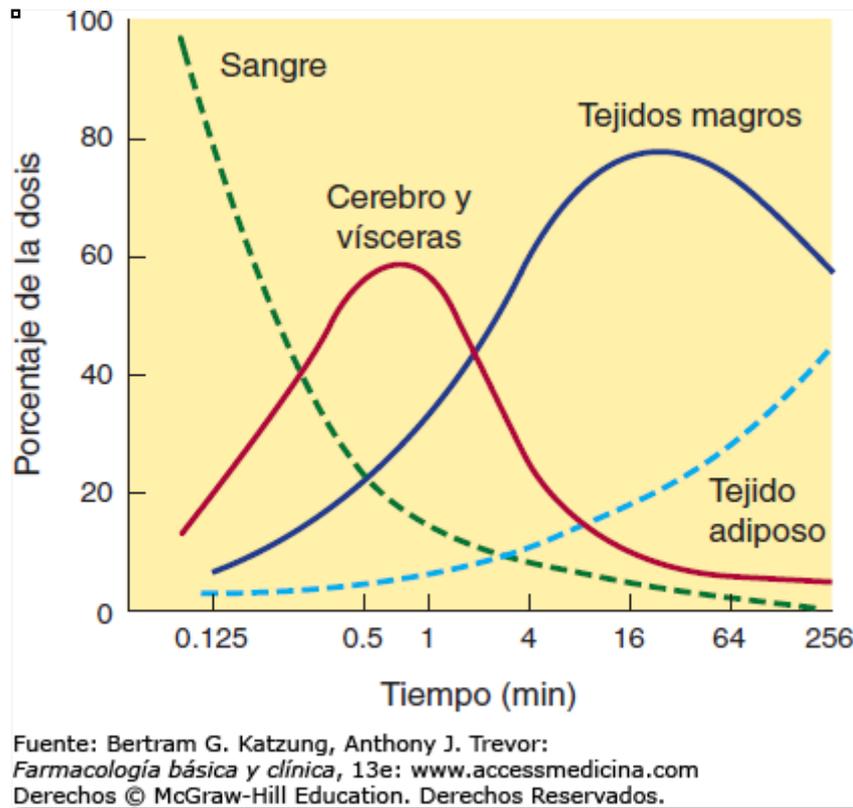


Figura 7. Captación de un anestésico por los diferentes tejidos.

Transcurrido este tiempo, una vez sube la presión parcial del fármaco en la sangre, disminuirá la diferencia alveolo-venosa de presión parcial del anestésico y bajará, por tanto, la captación de anestésico desde el alveolo a la sangre. A partir de aquí, la captación tisular hacia los tejidos muy vascularizados se reduce o se detiene y comienza la llamada *fase de mantenimiento*, en la que la presión parcial alveolar depende principalmente de la captación por el músculo.

Puesto que el músculo representa prácticamente la mitad de la masa corporal y

recibe sólo un 20% del flujo cardíaco, va a tardar horas (entre una y cuatro dependiendo del fármaco) en conseguir el equilibrio.

Cuando se alcance el equilibrio en el tejido muscular, otro tejido mucho menos vascularizado, pero por el que los halogenados tiene gran afinidad, la grasa, continuará captando anestésico. Lo habitual en la anestesia clínica es que no llegue a alcanzarse el equilibrio en el compartimento grasa y, aun así, éste se convierte en un gran reservorio del fármaco.

La *fase de despertar* de la anestesia tiene lugar cuando el anestésico es eliminado del cerebro (y del resto de grupo de tejidos muy vascularizados). En esta fase, aunque suprimamos el fármaco anestésico de los circuitos respiratorios, el que se encuentra almacenado en los tejidos muscular y grasa hace de reservorio, redistribuyéndose entre los diferentes tejidos del organismo.

Para terminar de hablar de la farmacocinética de los anestésicos inhalados, haremos una mención al proceso de metabolismo de los mismos: los anestésicos halogenados clásicos se metabolizaban mediante oxidación enzimática hepática por el citocromo P450, generando compuestos hidrosolubles que serán eliminados después por la orina. Pero hay que destacar que los anestésicos halogenados más recientes apenas sufren metabolismo hepático (sólo un 3-5% del sevoflurano lo hace), siendo eliminados en su mayor parte a través del pulmón, por gradiente de presiones.

### 1.2.2. CONCENTRACIÓN ALVEOLAR MÍNIMA (CAM)

En anestesiología se define la *concentración alveolar mínima* (CAM) de un anestésico inhalado como la menor concentración, a presión atmosférica, en el alveolo capaz de suprimir la respuesta motora en el 50% de los individuos. La CAM se cuantifica mediante un sensor de gases colocado en la rama espiratoria del paciente y se monitoriza en la pantalla de las máquinas de anestesia como un dígito. Cada agente anestésico tiene su CAM, la cual podemos equiparar a su dosis. En la práctica clínica y utilizando exclusivamente agentes inhalados, es habitual necesitar 1,2 – 1,3 CAM para conseguir la inmovilidad del 95% de los pacientes.

En general, la CAM disminuye con la edad y también al asociar otros anestésicos. Por ejemplo, la CAM del sevoflurano es 2, pero se puede llegar a utilizar una CAM tan baja como 0.6 cuando se asocia una perfusión continua del opioide.

### 1.2.3. FARMACODINAMIA DE LOS ANESTÉSICOS INHALATORIOS

A fecha de redacción de esta tesis, los anestésicos inhalatorios son un caso excepcional de productos extensamente utilizados en la clínica y cuyo mecanismo de acción aún no se conoce con exactitud. Este hecho puede ser explicado, en parte, por la variedad de efectos que estos fármacos producen (hipnosis, analgesia, relajación muscular, protección neurovegetativa, inmovilidad) y por su diversidad en cuanto a estructura química, lo que hace difícil explicar su acción a través de un mecanismo único, como sucede en el caso de otras drogas.

La *hipótesis unitaria*, que postulaba la acción de los agentes anestésicos inhalados a través de la activación de un único receptor común ha quedado superada. Hoy sabemos que estos anestésicos no actúan por un mecanismo simple e idéntico, sino que interaccionan con una gran variedad de estructuras, tales como los receptores de neurotransmisores, canales iónicos voltaje-dependientes, enzimas y sistemas de segundos mensajeros. A esta nueva teoría se la denomina *hipótesis molecular*.

A nivel macroscópico, los anestésicos inhalados actúan sobre el sistema nervioso central (SNC), tanto en el encéfalo como en la médula espinal. A nivel superior, ejercen su acción de inconsciencia y amnesia. A nivel medular, bloquean la transmisión del dolor (en las interneuronas de las astas posteriores), la respuesta motora ante el mismo (actuando sobre las neuronas motoras medulares) y también la respuesta adrenérgica al dolor.

A nivel molecular, enumeramos a continuación, brevemente, algunos de los mecanismos propuestos por distintos autores en base a datos obtenidos en laboratorio (en tejidos o en animales de experimentación, la mayoría de ellos).

### *Acción a nivel de las sinapsis*

Diversos estudios bioquímicos arrojan muy variados mecanismos de acción a nivel molecular mediante los cuales los anestésicos inhalados podrían interrumpir la transmisión sináptica normal, tanto en la pre como en la postsinapsis. A dicho nivel ejercerían su acción bloqueando las transmisiones excitatorias y estimulando las inhibitorias.

Enumeramos algunos de los mecanismos propuestos que encontramos en la literatura:<sup>8 9 10 11 12</sup>

- bloqueando el impulso nervioso a nivel del axón;
- interfiriendo con la liberación de neurotransmisores (como el glutamato) en la terminal presináptica;
- alterando la síntesis, la recaptación o la metabolización de neurotransmisores;
- estimulando receptores postsinápticos inhibitorios como los de GABA, de Glicina o los opioides;
- inhibiendo los receptores excitatorios nicotínicos de la Acetilcolina, de la Serotonina o del Glutamato;
- alterando la unión de los neurotransmisores a los receptores postsinápticos, o tal vez modificando la conductancia iónica que sigue a la activación de los receptores postsinápticos por los neurotransmisores;
- alterando las propiedades del receptor del neurotransmisor (excitatorio / inhibitorio) o bien del segundo mensajero.

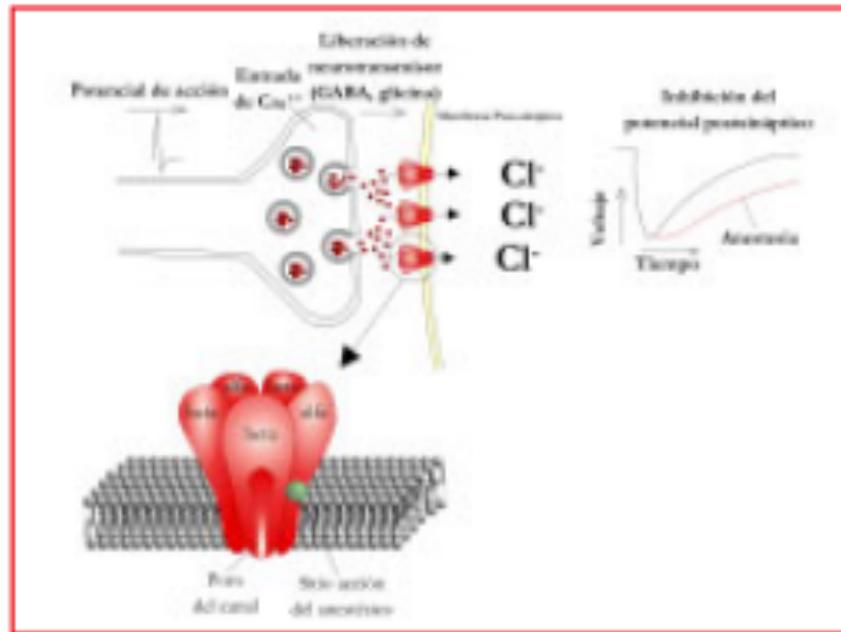


Figura 8. Ejemplo de mecanismo de acción de los anestésicos.

*Parte superior: los neurotransmisores inhibitorios se liberan y se unen al respectivo receptor inhibitorio, lo cual produce una entrada de cloro a nivel postsináptico. Este fenómeno es potenciado por los anestésicos inhalatorios. En la parte inferior, representación de un modelo de receptor.*

#### *Acción directa sobre lípidos o proteínas de las membranas celulares*

El hallazgo casi en el mismo momento por dos científicos (el Dr. Meyer en 1899 y el Dr. Overton en 1901<sup>13 14</sup>) de la alta correlación entre liposolubilidad de los agentes anestésicos inhalados (en aceite de oliva) y su potencia anestésica sugirió la idea de que los anestésicos inhalatorios tuviesen un lugar de acción hidrófobo, intercalándose en los lípidos de la membrana de la neurona y alterando así su integridad.

Si bien este mecanismo de acción se consideró probable durante unas décadas, no tardarían en aparecer estudios que lo pusiesen en entredicho, al constatar que distintos isómeros con la misma liposolubilidad tenían distinta potencia anestésica o que otras moléculas con similar estructura química y la misma liposolubilidad no manifestaban

propiedad anestésica alguna.<sup>15 16</sup>

Así, si la simple disrupción de la membrana lipídica ha quedado en la actualidad superada, nuevos esfuerzos se están llevando a cabo para avanzar en el conocimiento de la acción directa de los anestésicos inhalados sobre proteínas específicas de la membrana de la neurona, las cuales, finalmente, regulan un movimiento de iones durante la excitación de la membrana. Es probable que este efecto se deba a una unión directa del agente anestésico sobre el canal proteico de la membrana o con sus lípidos circundantes, o con ambos, y también existe la posibilidad de que los agentes anestésicos inhalados actúen indirectamente a través de la producción de un segundo mensajero.

#### *Acción sobre canales iónicos*

Los canales iónicos son proteínas situadas en la membrana citoplasmática que se ocupan de regular el flujo de los iones a su través. A nivel de la sinapsis, los canales iónicos influyen tanto en la liberación presináptica de neurotransmisores como en la excitabilidad postsináptica en respuesta a los mismos. Algunos de estos canales actúan como receptores postsinápticos de los neurotransmisores: los receptores nicotínicos de la Acetilcolina, receptores de Serotonina tipo 3, receptores del GABA, receptores de Glicina y receptores de Glutamato, que son activados por el NMDA.<sup>17</sup> Estudios bioquímicos sugieren que los anestésicos inhalados son capaces de actuar sobre estos canales-receptores de neurotransmisores y, además, directamente sobre otros canales iónicos que actúan de forma dependiente de voltaje (canales dependientes de voltaje para Sodio, Potasio y Calcio). La capacidad de los agentes anestésicos inhalados para modular el flujo de iones a través del complejo canal-receptor-neurotransmisor puede ser alterada por la mutación selectiva de aminoácidos en las proteínas del canal. Existe la posibilidad de que estos aminoácidos críticos fuesen el sitio específico al cual se unen los anestésicos inhalados.<sup>18</sup>

### *Acción sobre enzimas*

Algunos estudios clínicos recientes sugieren una acción de estos agentes a nivel enzimático, independiente a las anteriores. Lo que es más: algunas de estas enzimas implicadas parecen localizarse no en la neurona sino en la neuroglia.<sup>19 20 21 22 23 24</sup> Esto abre un nuevo abanico de posibilidades a estudiar acerca de las relaciones de estos fármacos con el tejido nervioso no neuronal del SNC.

### *Acción mediada por óxido nítrico (ON)*

El óxido nítrico (ON) se sintetiza en las células mediante la oxidación de un átomo de nitrógeno de la L-arginina, en una reacción catalizada por la enzima óxido nítrico sintetasa (ONS), en presencia de calcio. Una vez formado el ON, activa a la enzima guanidil ciclasa que cataliza la formación de GMPc. La entrada de calcio necesaria para la reacción es activada por el receptor N- metil D-aspartato (NMDA). El ON ha sido encontrado en varias localizaciones anatómicas del SNC como hipotálamo, mesencéfalo, cuerpo estriado, hipocampo, cerebelo y nervios periféricos. A diferencia de la mayoría de los neurotransmisores, no se almacena en vesículas sinápticas, sino que se sintetiza, actúa y es catabolizado y eliminado en pocos segundos.

Diversos estudios le atribuyen un importante papel en el estado de alerta de la conciencia.

Estudios en animales de experimentación (ratas) sugieren que los anestésicos inhalados halotano y enflurano inhiben a la enzima ONS, lo cual provoca una disminución del ON y por tanto también del GMPc, con lo que se disminuye la transmisión sináptica de las neuronas glutaminérgicas (hay que recordar la extensa acción excitatoria del glutamato a nivel del SNC). Este efecto se constata a nivel del SNC, de manera dosis-dependiente y especialmente en unas zonas concretas (mesencéfalo, cerebelo,

hipocampo y sustancia negra) y es de suponer que esté íntimamente relacionado con la disminución de, entre otras funciones, el nivel de conciencia. Es dosis dependiente, y se ha comprobado que la adición de un inhibidor de la ONS disminuye la CAM de los anestésicos, así como que un incremento de la L. arginina (precursora de ON) aumenta las necesidades de anestésico.

Estas experiencias refuerzan la idea de que el ON esté fuertemente implicado en los mecanismos de acción de los anestésicos inhalados.

También se ha encontrado ON a nivel del nervio periférico. A este nivel, parece estar implicado en la transmisión del estímulo doloroso, de manera que, la inhibición de la ONS podría contribuir al boqueo nociceptivo a nivel periférico.

Todo lo expuesto hasta ahora lleva a pensar a la comunidad científica que el mecanismo de acción de los anestésicos inhalados no pueda ser explicado por una única vía, sino que sea realmente multimodal, a nivel molecular, y multizonal, a nivel anatómico, y que los distintos mecanismos conocidos (y probablemente otros aún sin descubrir) se complementen y se desarrollen de manera particular en diferentes áreas del sistema nervioso, tanto del central como del periférico, de manera que el efecto final de los fármacos sea el resultado global de la suma de todos ellos.

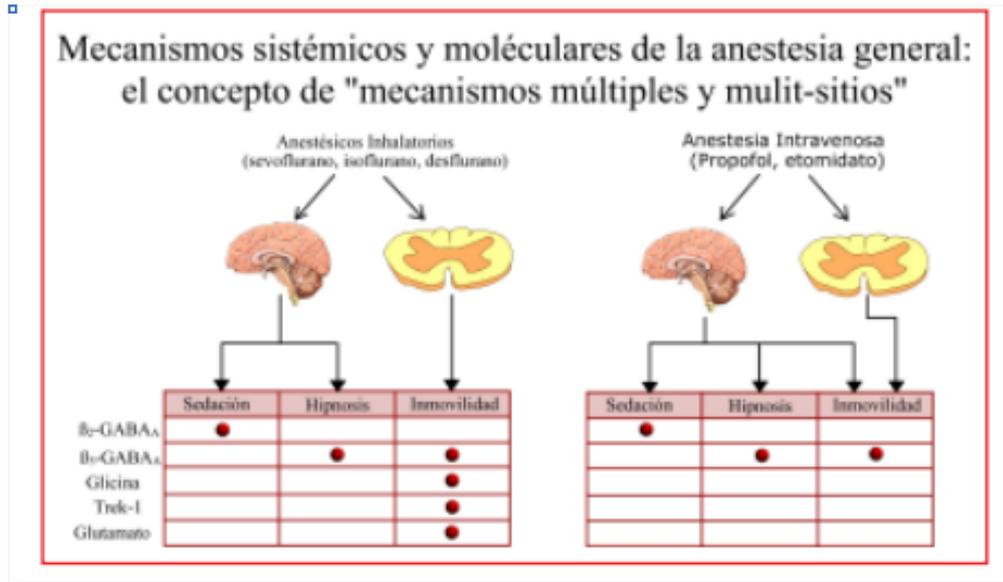


Figura 9. Mecanismos sistémicos y moleculares de la anestesia general.

La sedación y la hipnosis que producen los agentes anestésicos inhalados se debe a sus efectos en el cerebro (canales de la familia de receptores GABA), mientras que la inmovilidad resulta predominantemente de la depresión de las neuronas espinales.

## 1.2.4. SEVOFLURANO

### A. PROPIEDADES FÍSICAS

Este anestésico volátil es un éter isopropil fluorado no inflamable. Tiene una presión de vapor de 162 mm de Hg a 20 grados Celsius y un punto de ebullición de 58.5 grados Celsius. Su coeficiente sangre/gas es de 0.59 y su MAC en un 100 % de oxígeno es 1.71 y 0.66 en un 63.5 % de óxido nitroso.



*Figura 10. Presentaciones del anestésico sevoflurano.*

El sevoflurano experimenta una degradación temperatura dependiente por la cal sodada de los aparatos cerrados de anestesia (la cal sodada se utiliza como absorbente del CO<sub>2</sub> exhalado por el paciente anestesiado), por lo que no debe utilizarse en circuitos cerrados.

## B. MECANISMO DE ACCIÓN

Por su baja solubilidad en sangre permite una inducción rápida, en un tiempo entre 2 y 3 minutos. Además, tiene un olor relativamente agradable y no produce tos durante la inducción, por lo que puede ser utilizado con o sin anestésicos intravenosos. Estas son algunas de las razones por las que en nuestros días es el agente inhalatorio más utilizado en la inducción anestésica con mascarilla en pacientes pediátricos, en los cuales se ha mostrado eficaz en la reducción del estrés perianestesia.

La inducción de la anestesia puede lograrse con concentraciones entre 0.5 y 3 % de sevoflurano en aire o en oxígeno, o utilizando de un 0.7 a 2 % de sevoflurano en un 65 % de óxido nitroso. El mantenimiento de la anestesia se puede lograr con un 0.4 a 2 % de sevoflurano.

Esta es la dosificación (MAC) en función de la edad del niño que recomienda "uptodate" a fecha de redacción de esta tesis:

- 0 a 1 meses de neonatos a término: Sevoflurano en oxígeno, 3.3%
- 1 a <6 meses: Sevoflurano en oxígeno, 3%
- 6 meses a <1 año: Sevoflurano en oxígeno, 2,8%

Sevoflurano en 65% de N20 / 35% de oxígeno: 2%

- 1 a <3 años: Sevoflurano en oxígeno: 2,8%

Sevoflurano en 60% de N20 / 40% de oxígeno: 2%

- 3-12 años: Sevoflurano en oxígeno, 2,5%

La duración de su acción depende de la concentración en sangre cuando el sevoflurano se interrumpe, pero la tasa de cambio de concentración anestésica en el pulmón es rápida debido a su baja solubilidad en sangre (0,63). El tiempo de decremento del 90% (tiempo requerido para que la concentración anestésica en tejidos ricos en vasos disminuya en un 90%) para el sevoflurano es corto cuando la duración de la anestesia es de menos de 2 horas, con despertar a los 7 - 8 minutos de la suspensión de su

administración, pero aumenta drásticamente a medida que se alarga la duración de la administración.

Sólo un 3-5% del sevoflurano administrado es metabolizado. Este proceso se realiza en el hígado a través del CYP2E1 y el metabolito resultante excretado por el riñón. El resto del gas es eliminado mediante el pulmón (95-98%).

## **C. EFECTOS SOBRE APARATOS Y SISTEMAS**

### ***C.1. SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO***

Los anestésicos halogenados son capaces de producir hipnosis, amnesia, y analgesia. Producen sus efectos actuando tanto a nivel cerebral como medular. Se desconoce que actúen sobre los nervios periféricos.

Los anestésicos inhalatorios producen una disminución del consumo de oxígeno y del flujo cerebrales, pero no de forma paralela, de manera que tiene lugar una cierta descoordinación entre el metabolismo cerebral y el flujo sanguíneo.

A CAM superior a 1,5, afecta a la autorregulación del flujo sanguíneo cerebral, lo cual podría permitir una caída de este flujo en caso de hipotensión hemorrágica intraoperatoria.<sup>25</sup>

El sevoflurano puede incrementar la presión intracraneal mediante dilatación de los vasos cerebrales.

Se han documentado casos de agitación o delirio en la inducción anestésica con sevoflurano, alteraciones en el trazado EEG y excepcionalmente movimientos anormales en niños, si bien ninguno de estos efectos se ha asociado con algún tipo de significación clínica más allá del acto anestésico.<sup>26</sup>

Como el resto de anestésicos inhalados, el sevoflurano se ha asociado a casos de hipertermia maligna, algunos de ellos fatales, por lo que está contraindicado en personas susceptibles de presentar esta complicación.

## *C.2. SOBRE EL SISTEMA CARDIOCIRCULATORIO*

A nivel cardiovascular, se considera el sevoflurano como un agente que ofrece una gran estabilidad hemodinámica puesto que, en general, permite alcanzar un grado de anestesia profunda sin modificación significativa de la frecuencia cardíaca o de la tensión arterial.

No obstante, es sabido que deprime levemente la contractilidad miocárdica y reduce las resistencias vasculares, por lo que puede disminuir la tensión arterial. Este efecto es dosis-dependiente. Además, asocia un pobre o nulo incremento de la frecuencia cardíaca, por lo que el gasto cardíaco puede caer. La *American Heart Association* considera el sevoflurano puede exacerbar una disfunción miocárdica subyacente.

A diferencia de otros agentes inhalados, no se ha relacionado el sevoflurano con el síndrome de robo coronario.

Puede alargar el intervalo QT y se han comunicado casos de taquicardia ventricular tipo torsade de points, incluso mortales. Se recomienda extremar las precauciones en pacientes con riesgo de prolongación del intervalo QT como, por ejemplo, los que reciben a la vez fármacos que pueden prolongarlo (los antiarrítmicos de clase I y III, entre otros) o los afectados de síndrome de QT largo congénito.<sup>27</sup>

Algunos agentes inhalados recientes, especialmente el sevoflurano, se ha relacionado con una disminución de la lesión miocárdica inducida por hipoxia, de manera que se utiliza como anestésico en la cirugía coronaria con una finalidad de

"cardioprotección". En capítulos siguientes de esta tesis volveremos sobre este aspecto tratando de analizarlo a nivel bioquímico.<sup>28 29</sup>

### *C.3. SOBRE EL SISTEMA RESPIRATORIO*

Causa depresión respiratoria dependiente de la dosis, con aumento de la frecuencia respiratoria y disminución global del volumen minuto.

Disminuye la respuesta ventilatoria a la hipoxia y a la hipercapnia. Puede producir colapso de la vía aérea superior posiblemente por inhibición de la acción del geniogloso.

30

Ejerce una acción broncodilatadora y, a diferencia de otros halogenados, no es irritante para la vía aérea.

### *C.4. EFECTOS HEPÁTICOS*

Los efectos secundarios graves a nivel hepático de algunos agentes anestésicos halogenados antiguos como el halotano (hepatitis grave por hipersensibilidad, de mecanismo autoinmune y necrosis hepática por su alto grado de metabolización a nivel hepático) han quedado superados con el uso de agentes más recientes, como el sevoflurano y el desflurano, los cuales no parecen ejercer efectos adversos en la función ni en el flujo hepáticos. No obstante, se han descrito casos aislados de hepatitis o disfunción hepática postoperatoria y probablemente la exposición previa a halogenados puede incrementar este riesgo.<sup>31 32</sup>

### *C.5. EFECTOS SOBRE LA FUNCIÓN RENAL*

Conocemos en la actualidad dos mecanismos diferentes por los que los agentes halogenados pueden inducir toxicidad renal: por su metabolismo, con la producción de flúor inorgánico (F-) y por su degradación, con la generación de productos tóxicos, como el compuesto A.

En cuanto al flúor inorgánico debemos explicar que algunos agentes halogenados clásicos, como el metoxiflurano sufren un mecanismo de oxidación enzimática en el hígado que conlleva su deshalogenación, de manera que se libera flúor inorgánico (F-) que debe ser eliminado por el riñón. El F- es un potente inhibidor de numerosos sistemas enzimáticos, incluidos los relacionados con la hormona antidiurética, y puede producir insuficiencia renal poliúrica, resistente a la vasopresina, extensamente descrita en los postoperatorios con metoxiflurano.

La toxicidad del F- se correlaciona con su concentración, pero probablemente depende más de la formación intrarrenal de F-, del pH y flujo urinario y especialmente de la presencia de nefropatía previa, interacciones farmacológicas con nefrotóxicos y factores genéticos.

Sin embargo, aunque el sevoflurano es sensible a desflurinización, no se asocia de forma significativa a toxicidad renal por F-. Esto quizás podría explicarse porque el sevoflurano tiene un bajo grado de metabolización hepática (hemos descrito previamente que es de sólo un 3%) y un bajo coeficiente de partición sangre/gas, lo que permite que el agente sea eliminado rápidamente por vía pulmonar en cuanto cesa su administración.

Si bien la producción de F- por el metabolismo del sevoflurano no parece producir una lesión renal significativa en humanos, persiste la polémica sobre la nefrotoxicidad del sevoflurano secundaria a su degradación por los absorbentes de CO<sub>2</sub> que se utilizan en las máquinas de anestesia. El sevoflurano reacciona con las bases fuertes producidas en los absorbentes de CO<sub>2</sub> para dar una molécula conocida como compuesto A

(pentaflúor-isoprenil-fluorometil-éter:  $\text{CH}_2\text{F}-\text{O}-\text{CH}[\text{=CF}_2]\text{CF}_3$ ), que es nefrotóxico en ratas y, a dosis mayores, en primates.

La presencia de proteinuria o glucosuria, que se ha detectado al segundo-tercer día tras la administración del sevoflurano en voluntarios sanos, evidencian una nefrotoxicidad glomerular y del túbulo proximal y distal, sin cambios en la capacidad de concentración de la orina. Estas alteraciones, que no se deben al F- (pues no afectan a la capacidad de concentración de la orina), sino al compuesto A, son de difícil interpretación y su trascendencia clínica es desconocida, porque además de ser moderadas son transitorias, normalizándose a los 5-7 días de la exposición.<sup>33 34</sup>

#### *C.6. EFECTOS MUSCULARES*

Los anestésicos halogenados potencian la acción de los bloqueantes neuromusculares y, además, ejercen, por ellos mismos, un efecto miorrelejante, de manera que con una CAM de entre 2 y 3 permiten la intubación del paciente.

#### *C.7. OTROS EFECTOS*

El uso de anestésicos inhalados, entre ellos el sevoflurano, se ha asociado con casos raros de hiperpotasemia perioperatoria en niños, especialmente en asociación con succinilcolina. Pacientes con enfermedad neuromuscular diagnosticada o latente, como la distrofia de Duchenne, son especialmente vulnerables. Otras anomalías incluyen elevación de la CPK y mioglobinuria.

### **D. REACCIONES ADVERSAS DEL SEVOFLURANO**

Con el sevoflurano se pueden presentar algunas reacciones adversas

medicamentosas, pero la mayoría de ellas pueden ser consideradas "evento adverso no grave" (se reserva el término grave para el que puede dar como resultado la muerte del paciente, una prolongación significativa de su hospitalización o bien una secuela física o mental que ocasione discapacidad).

En la práctica clínica, los más habituales son la agitación psicomotora en los niños, la presencia de náuseas o vómitos postanestesia, las anomalías en el EEG y los movimientos anómalos.

Se relacionan, a continuación, por frecuencia y por órganos y aparatos:

1. Con una frecuencia del 10%:

- Cardiovascular: Hipotensión (4% a 11%, dosis-dependiente)
- Sistema nervioso central: Agitación (7% a 15%)
- Gastrointestinal: Náuseas (25%), vómitos (18%)
- Respiratoria: Tos (5% a 11%)

2. Con una frecuencia del 1% al 10%:

- Cardiovascular: taquicardia (2% a 6%), bradicardia (5%), hipertensión (2%)
- Sistema nervioso central: somnolencia (9%), temblores (6%), mareos (4%), cefalea (1%), hipotermia (1%), mioclono (1%),
- Gastrointestinal: Sialorrea (2% a 4%)
- Respiratoria: Obstrucción de las vías respiratorias (8%), laringoespasma (2% a 8%), apnea (2%)
- Otros: Fiebre (1%)

## E. ANESTÉSICOS INHALATORIOS Y CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA

Es de todos conocido el debate y la preocupación actuales, de alcance mundial, por el “cambio climático” de nuestro planeta, también denominado “calentamiento global”. Algunas teorías lo atribuyen, al menos en parte, al “efecto invernadero”, según el cual el acúmulo en nuestra atmósfera de determinados gases, actuaría reteniendo parte de la energía emitida por la superficie de la Tierra tras haber sido calentada por la radiación del sol.

Los agentes considerados principales “gases de efecto invernadero” son el dióxido de carbono, el metano, el óxido nitroso, los hidrofluorocarbonados y el ozono. Pues bien, el óxido nitroso y los anestésicos halogenados (incluidos en el grupo de hidrofluorocarbonados) son agentes anestésicos de conocido efecto invernadero y ampliamente utilizados en nuestros días en hospitales de todo el planeta.<sup>35 36 37</sup>

A pesar de los mensajes de alerta y de las recomendaciones surgidas del protocolo de Kioto para reducir el uso de gases de efecto invernadero, estos agentes han tenido un tratamiento especial por ser considerados fármacos necesarios. De ellos, el desflurano es el que se ha relacionado con un mayor efecto contaminante y el único libre de este efecto indeseable es el xenón. Sin embargo, el alto precio de este gas, que se encuentra en la atmósfera a concentraciones bajísimas hace impensable, por el momento, un uso del mismo como sustituto de los demás agentes inhalados.

En la actualidad, las medidas recomendadas para la reducción de la contaminación ambiental inciden en el uso correcto de estos agentes, limitando al máximo posible o eliminando el del óxido nitroso y utilizando circuitos adecuados y flujos de gas bajos para los demás.

## 2. EFECTOS DE LOS ANESTÉSICOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

### 2.1. SISTEMA NERVIOSO

El sistema nervioso es un conjunto de órganos y estructuras constituido por tejido nervioso, cuya unidad funcional es la neurona.

Sus funciones son numerosas, complejas y en gran medida desconocidas, aunque es habitual sintetizar extremadamente diciendo que se ocupa de la función de relación de los seres vivos, percibiendo estímulos procedentes del mundo exterior (y también del interior del propio organismo), procesándolos, interpretándolos y generando una respuesta acorde a ellos, la cual es efectuada por el propio sistema nervioso central (pensamiento) o bien transmitida en forma de impulsos nerviosos hasta los diferentes órganos.

Para facilitar el entendimiento y el estudio de este sistema, se suele hacer una división del sistema nervioso desde un punto de vista anatómico y también desde un punto de vista funcional.

#### 2.1.1. CLASIFICACIÓN ANATÓMICA

Anatómicamente, se divide en dos grandes bloques: el *sistema nervioso central* (SNC), denominado así por su localización axial en el cuerpo, y el *sistema nervioso periférico* (SNP).

## A. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El SNC está constituido por dos grandes estructuras, continuación una de la otra: el encéfalo y la médula espinal. Ambas están fuertemente protegidas por hueso, el cráneo y la columna vertebral, respectivamente, y, además, por tres membranas, llamadas meninges que, de exterior a interior, son duramadre, aracnoides y piamadre.

Posee unas cavidades interiores (ventrículos en el encéfalo y conducto endimario en la médula) que contienen el líquido cefalorraquídeo, el cual ejerce funciones como el intercambio de sustancias, la eliminación de desechos y un efecto puramente mecánico como amortiguador.

Las células del SNC se disponen de tal forma que, de manera macroscópica, dan lugar a dos formaciones diferentes: la sustancia gris y la sustancia blanca. La gris está constituida por el soma de las neuronas, sus dendritas y fibras amielínicas y las células de glía. Es la zona donde tienen lugar las sinapsis. La sustancia blanca está constituida principalmente por fibras nerviosas mielinizadas, que conducen los impulsos nerviosos, así como también algunas células de glía.

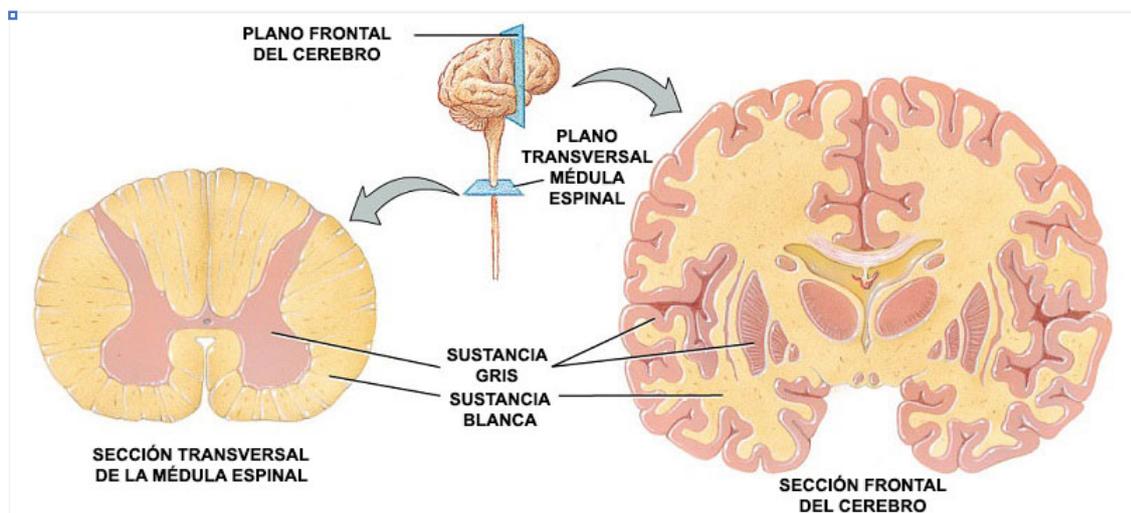
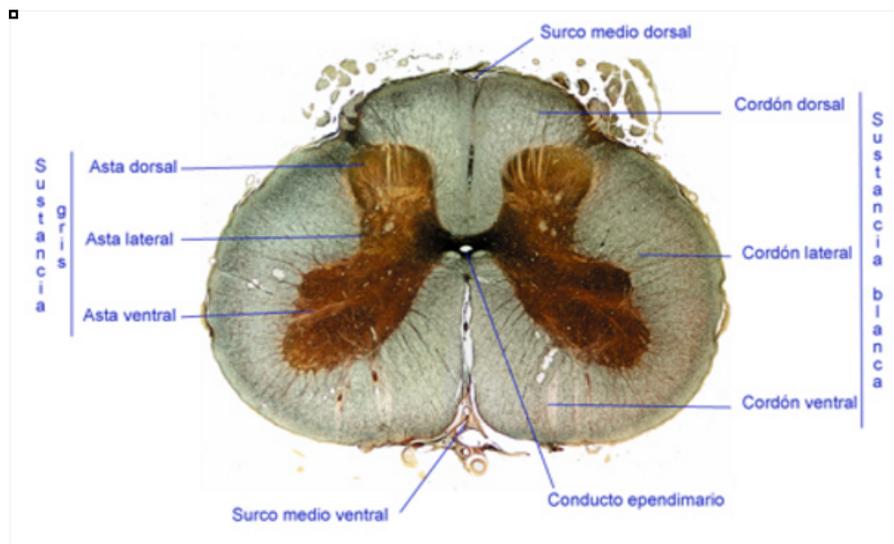


Figura 11. Distribución de la sustancia gris y la sustancia blanca en el cerebro y en la

*médula.*

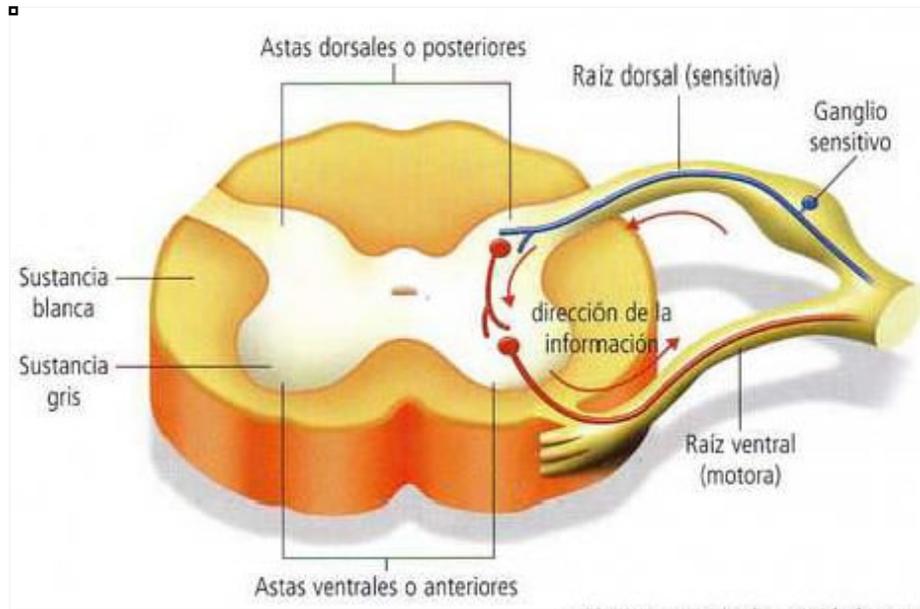
A nivel del encéfalo, la sustancia gris se localiza en la corteza cerebral y cerebelosa y, en profundidad, en formaciones llamadas núcleos grises de la base. En cambio, a nivel de la médula espinal, los somas de las neuronas se localizan en la zona central, dando lugar a una formación que cortada transversalmente recuerda la morfología de una mariposa. Las "alas", extendidas, tienen tres salientes denominados astas, que según su disposición anatómica se identifican como dorsales, intermedias y ventrales. Las dorsales contienen neuronas interpuestas en la vía sensitiva, las intermedias corresponden a las neuronas centrales del Sistema Nervioso Autónomo Simpático y Parasimpático y las ventrales contienen neuronas de tipo motor.



*Figura 12. Disposición de los somas de las neuronas en la médula espinal.*

La sustancia blanca se distribuye en el encéfalo en la región más interior y alrededor de los núcleos grises y, en la médula, rodeando por fuera a la sustancia gris. Los axones se agrupan en fascículos que, en el caso de la médula, constituirán las raíces dorsales y las ventrales. Las raíces dorsales y ventrales emergen desde el canal vertebral, por los agujeros vertebrales y confluyen cerca del ganglio raquídeo de cada lado. Desde

los ganglios surgen los nervios raquídeos.



*Figura 13. Circuitos sensitivo, de la información y motor.*

El encéfalo se subdivide en tres grandes estructuras: cerebro, cerebelo y tallo o tronco cerebral, que a continuación se definen muy brevemente:

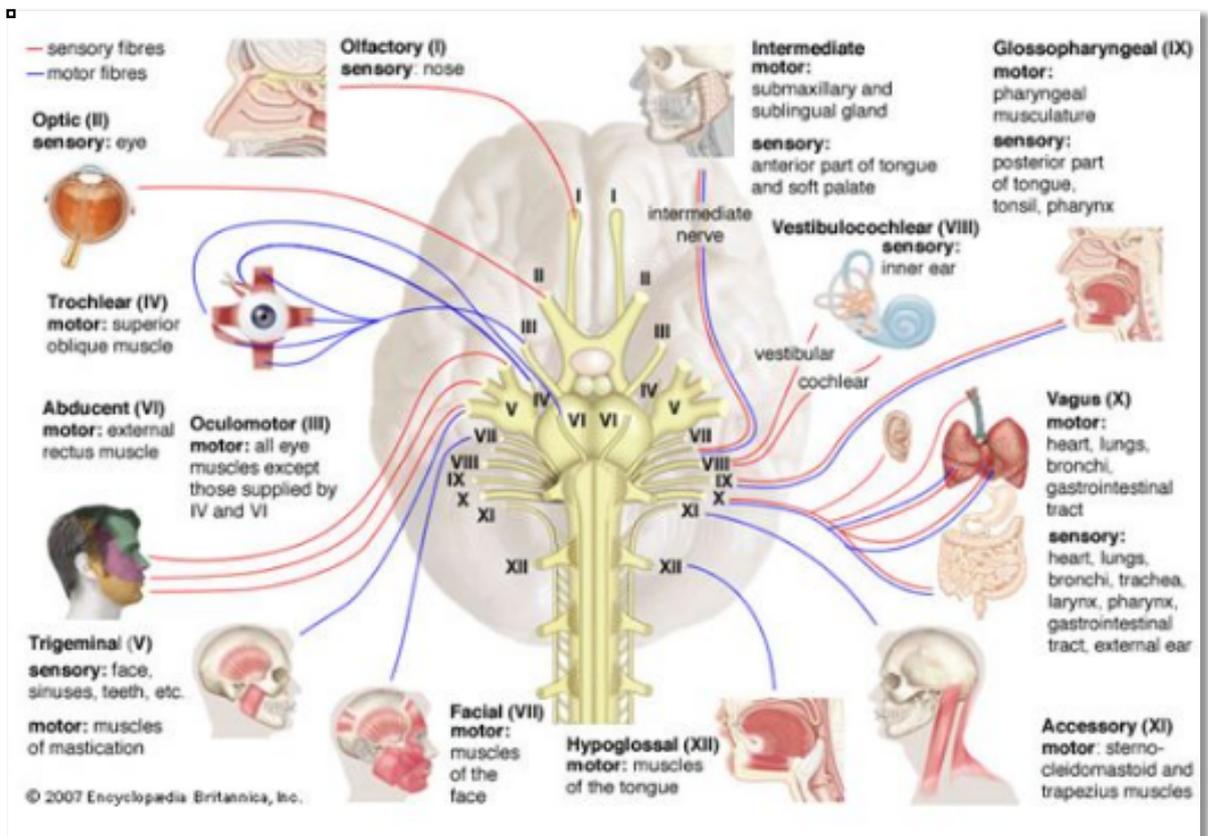
*Cerebro:* es la sección más voluminosa. Se divide en dos mitades o hemisferios, el derecho y el izquierdo, separados por la cisura interhemisférica y comunicados a través del cuerpo calloso. Su parte más superficial, constituida por sustancia gris, se llama corteza cerebral y presenta unos plegamientos denominados circunvoluciones. Por debajo de ésta se encuentra la sustancia blanca encefálica y en las zonas más profundas unos núcleos de sustancia gris denominados de la base, el tálamo y el hipotálamo.

*Cerebelo:* se localiza en la parte más baja y posterior del encéfalo, alojado en la fosa

cerebral posterior junto al tronco del encéfalo.

*Tronco cerebral:* conecta el cerebro con la médula espinal y se subdivide en mesencéfalo, protuberancia y bulbo raquídeo.

Tratar de ubicar funciones determinadas en una región concreta del sistema nervioso central es simplificar en extremo, puesto que hoy sabemos que existen multitud de complejas interconexiones entre las diferentes áreas, pero, de manera esquemática



se puede sintetizar como sigue:

*Figura 14. Ubicación de funciones en el sistema nervioso central.*

## B. SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO

El sistema nervioso periférico está constituido por los nervios que emergen del sistema nervioso central. A su vez, estos nervios están formados por axones y por ganglios periféricos, siendo la única estructura anatómica que contiene cuerpos neuronales fuera del sistema nervioso central. Recorren toda la anatomía: a nivel cefálico, los nervios craneales y, en el resto del cuerpo, los nervios espinales.

Los pares craneales se encargan de la información sensorial y motora del cuello y la cabeza. Son doce, tradicionalmente denominados por un número del I al XII.

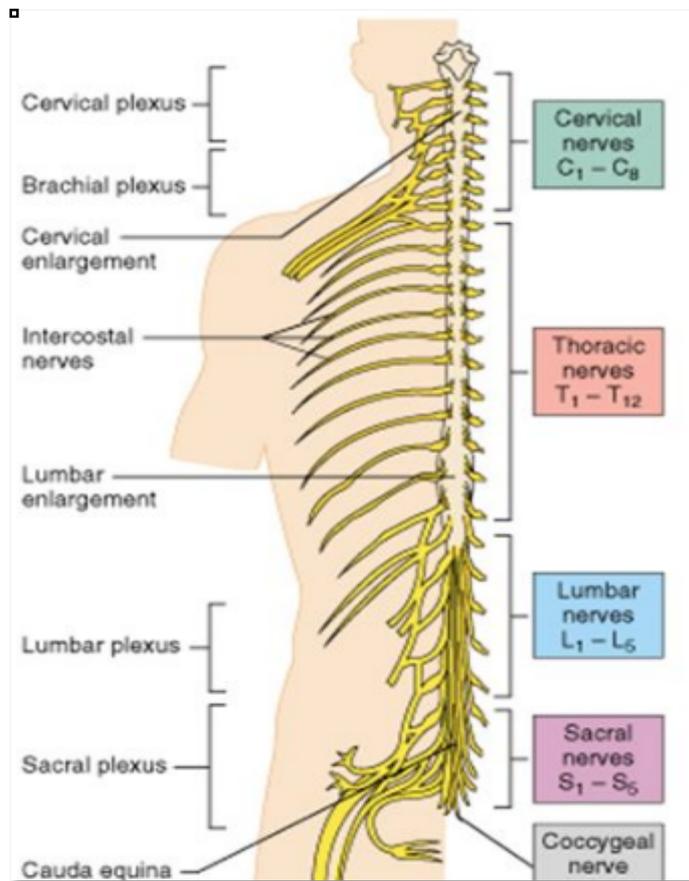


Figura 15. Esquema de situación de nervios espinales.

Los nervios espinales se encargan de la información sensorial y motora del tronco

y las extremidades. Son treinta y un pares y se subdividen en ocho pares cervicales, doce torácicos, cinco lumbares, cinco sacros y un par coccígeos.

### 2.1.2. CLASIFICACIÓN FUNCIONAL

Independientemente de la clasificación anatómica del sistema nervioso en función de su localización axial o distal al eje, existe otra clasificación funcional, de enorme interés en el ámbito de la salud. Esta división se realiza en base a las estructuras nerviosas que se encargan de las funciones voluntarias o involuntarias del hombre.

Así, se denomina sistema nervioso somático al que se ocupa de las funciones conscientes, voluntarias, implicadas en la función de relación con el medio externo, como, por ejemplo, el control de los sentidos o el movimiento. Se denomina *sistema nervioso somático*.

El otro gran bloque nervioso se encargaría de la regulación de las funciones no conscientes, como, por ejemplo, la respiración o el peristaltismo intestinal. y de la sensibilidad de las vísceras. A éste se le denomina *sistema nervioso autónomo* o *vegetativo* y, a su vez, está organizado en dos sistemas contrapuestos de cuyo equilibrio depende el resultado. Se trata de los sistemas *simpático* y *parasimpático*.

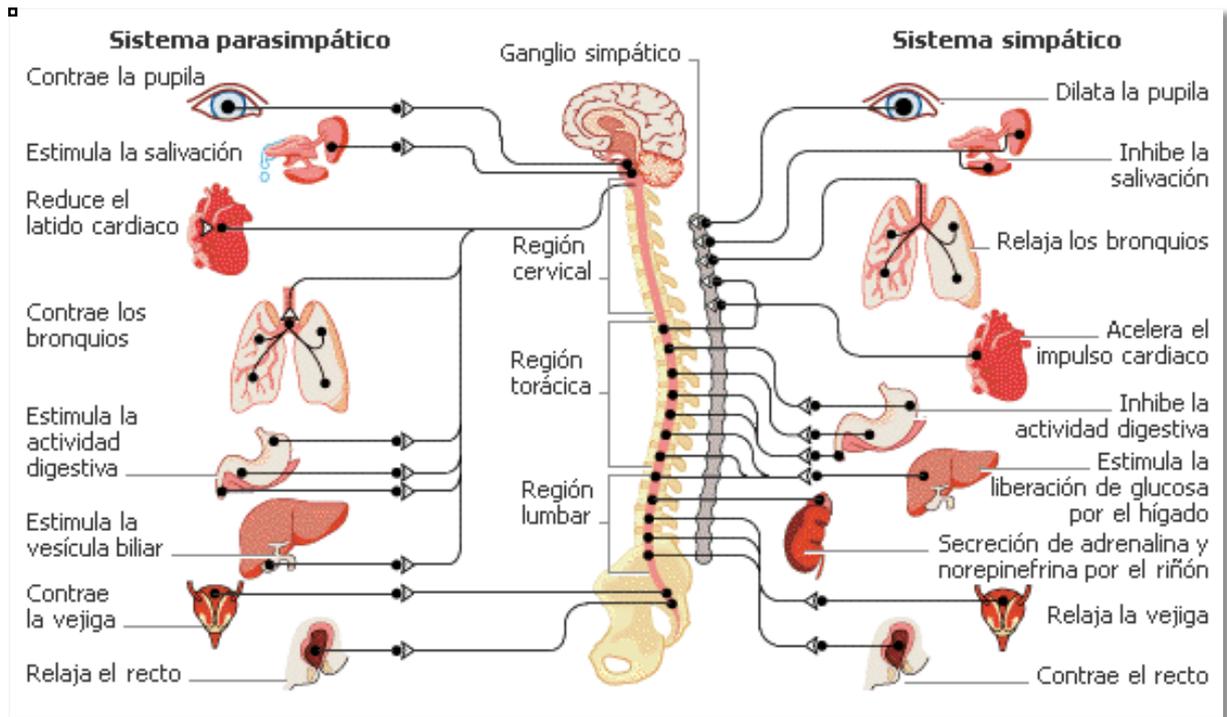


Figura 16. Estructuras nerviosas encargadas en las funciones voluntarias e involuntarias.

## 2.2. DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Se dice que el desarrollo del sistema nervioso de cada embrión es un fiel recordatorio del desarrollo filogenético de las especies, de manera que, según la teoría de la evolución descrita por Darwin, cada ser humano encierra en su propio desarrollo un largo proceso evolutivo heredado de los diferentes organismos inferiores que lo precedieron.

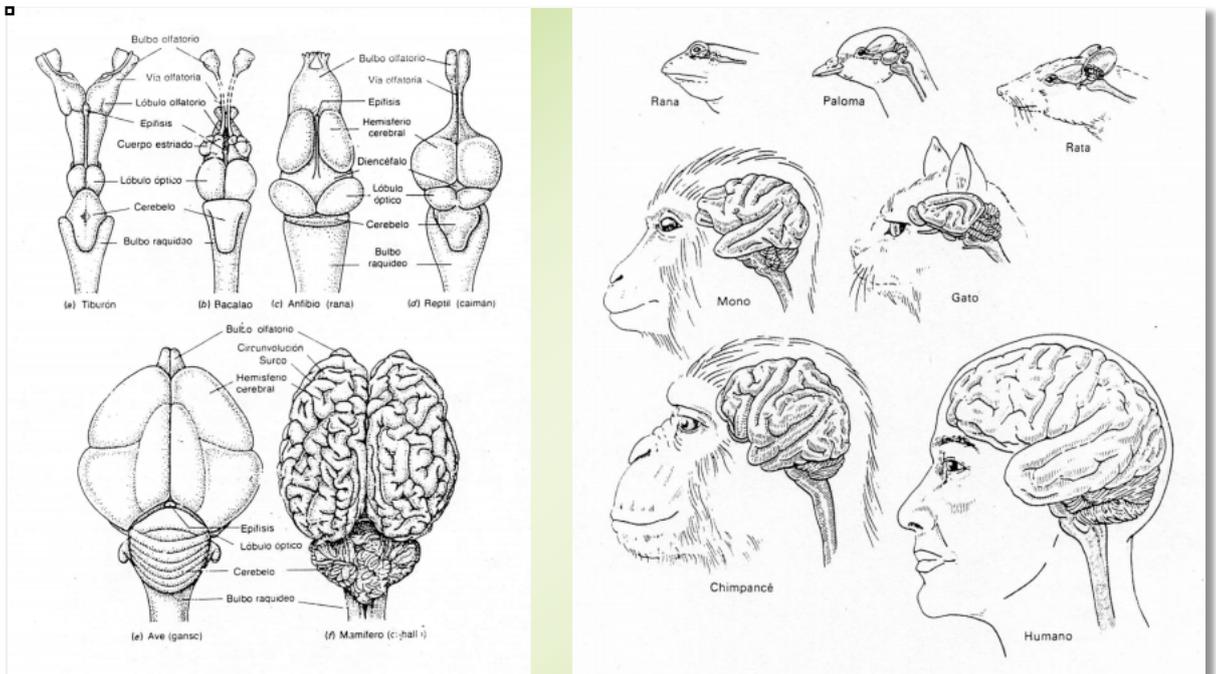


Figura 17. Desarrollo del sistema nervioso central en el ser humano.

Por razones aún desconocidas para la ciencia, ya desde la primera división del óvulo fecundado en dos células, cada una de ellas va a seguir un camino diferente: una dará lugar al embrión mientras que la otra generará los tejidos de soporte al mismo (placenta, membranas amnióticas...). Progresivamente, irá aumentando el número de células y a su vez la diferenciación de las mismas, siguiendo una hoja de ruta genética, de manera que se alcance un resultado final de múltiples tejidos y órganos distintos. Un

ejemplo claro de esta diferenciación lo constituye el fenómeno de la inducción neural: cómo una parte del embrión, sometida a unas señales químicas procedentes de otras células cercanas, experimenta un proceso de diferenciación dando lugar a la placa neural, origen del tejido nervioso. Este tejido sufrirá una serie de cambios morfológicos y a nivel celular (proliferación, migración, diferenciación, sinapsis...) que se prolongan hasta mucho más allá del nacimiento del nuevo ser, durante toda su infancia y, quizás durante la adultez, bajo el fenómeno que denominamos plasticidad neuronal y que implica un proceso continuo de muerte celular, de regeneración celular, sinaptogénesis, etc.

Describiremos muy someramente el desarrollo del sistema nervioso, en primer lugar, desde un punto de vista macroscópico o anatómico y, en segundo lugar, desde un punto de vista microscópico, a nivel celular y bioquímico.

### 2.2.1. DESARROLLO DEL SNC A NIVEL MACROSCÓPICO

Podemos subdividirlo de una manera más bien académica en cuatro fases:

*Centralización:* es el proceso por el que las células nerviosas tienden a agruparse en el dorso del embrión.

*Encefalización:* se refiere a la mayor congregación de células nerviosas en el extremo superior del tubo nervioso.

*Diferenciación:* es la especialización de las células en distintos grupos funcionales.

*Plegamiento:* es el apilamiento de las estructuras neurales dentro de la cavidad craneal.

Tras la fecundación se ha producido un período de rápida replicación celular que da lugar a estructuras cada vez más complejas llamadas mórula y, posteriormente,

blástula. La siguiente fase se denomina gastrulación, en la que ya se definen tres capas celulares distintas: ectodermo, mesodermo y endodermo, las cuales envuelven una cavidad central, el blastocele.

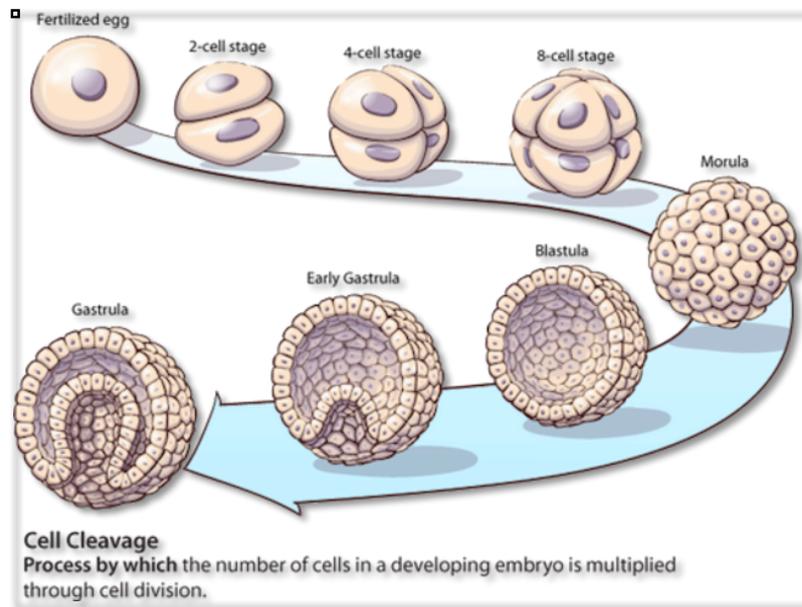


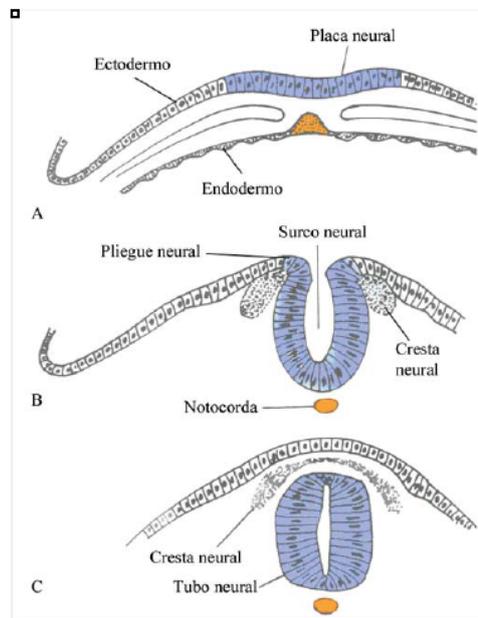
Figura 18. Fases del desarrollo embrionario humano.

A los 18 días tras la fecundación se produce el primer esbozo de sistema nervioso en la blástula. Desde una determinada zona del mesodermo que se denomina "el organizador", se liberan unas sustancias químicas que actúan como inductores del ectodermo para que éste se especialice en una estructura "diferente" denominada *placa neural*

Quizás con una finalidad protectora, la placa neural experimenta un proceso de invaginación hasta formar, a los 22 días, un cilindro: el tubo neural, el cual se extiende a lo largo de todo el dorso del organismo.

De las células situadas en el límite entre la parte neural y la no neural del ectodermo se forman unas estructuras longitudinales a cada lado del tubo neural

denominadas *crestas neurales*. De la proliferación de las células de las crestas neurales obtendremos los esbozos de los futuros ganglios y nervios raquídeos, así como las células de Schwann, que se encargarán de mielinizar todo el SNP.



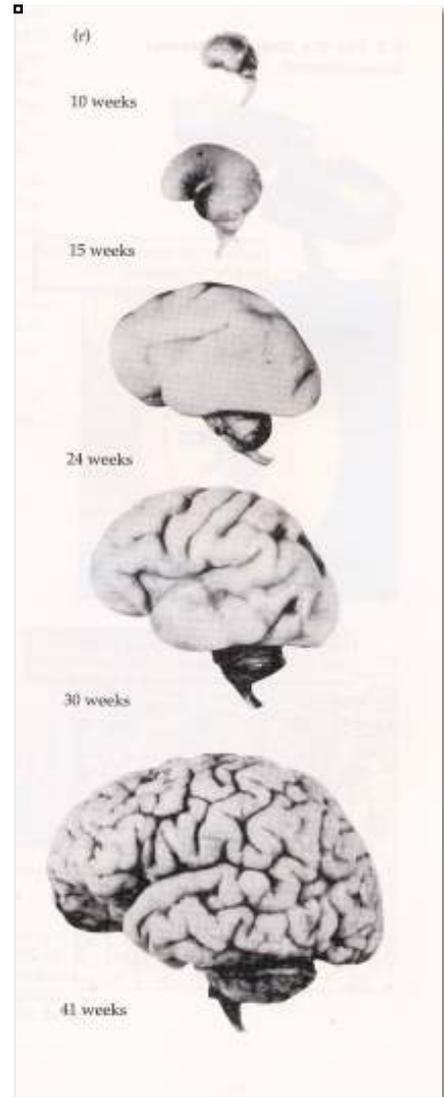
*Figura 19. Desarrollo del sistema nervioso humano.*

Las distintas zonas del tubo neural van a sufrir diferentes transformaciones en su morfología, con un desarrollo superior en las zonas más craneales del tubo, lo cual se denomina encefalización. Ya en la quinta semana de gestación se distinguen tres zonas embrionarias, de rostral a caudal: prosencéfalo, mesencéfalo y romboencéfalo, que se continúa con el tubo neural.

Posteriormente, del prosencéfalo surgirán dos evaginaciones laterales que constituirán el telencéfalo, origen de los dos hemisferios cerebrales. El prosencéfalo, que queda comprendido en medio de ellos, dará lugar al diencéfalo. El mesencéfalo quedará por debajo del diencéfalo y del rombencéfalo se definirá una porción más anterior (metencéfalo), de la que se formarán el cerebelo y el puente y otra más caudal

(mielencéfalo) que dará lugar al bulbo, que se continúa con la médula espinal.

La velocidad de crecimiento de la parte más anterior del sistema nervioso es mayor que la del resto, de manera que a nivel de telencéfalo y diencefalo se van a producir una serie de giros y surcos (fase de plegamiento). El grosor de la corteza cerebral aumenta con la maduración, pero lo hace de manera diferente en las distintas áreas. Por ejemplo, la corteza visual tiene el grosor de la del adulto a los seis meses de vida, mientras que las áreas de asociación visual lo alcanzan alrededor de los diez años.



*Figura 20. Etapas del desarrollo del cerebro humano.*

### 2.2.2. DESARROLLO DEL SNC A NIVEL MICROSCÓPICO

También dividiremos el desarrollo del SNC desde un punto de vista celular y bioquímico, de una manera didáctica, en dos fases:

*Primera fase:* Generación del SN. Se puede subdividir en cuatro etapas sucesivas cronológicamente:

- Inducción de la placa neural
- Proliferación neural
- Migración, diferenciación y agregación
- Mielinización

*Segunda fase:* Reorganización. También incluye diferentes procesos:

- Desarrollo de axones y dendritas
- Formación de sinapsis
- Muerte celular y reordenamiento sináptico
- Cambios en la sensibilidad a neurotransmisores
- Conceptos de plasticidad neuronal, "períodos vulnerables" y neurogénesis en el adulto.

## A. FASE DE GENERACIÓN DEL SN

### A.1. INDUCCIÓN DE LA PLACA NEURAL:

Hemos definido previamente cómo en la 2<sup>a</sup>-3<sup>a</sup> semana tras la fecundación, unas determinadas células del ectodermo, estimuladas por unos factores de crecimiento, experimentan un proceso de diferenciación que da lugar a un tejido con características diferentes, denominado “placa neural”, de manera que, si bien las células del cigoto y muy probablemente también las de la blástula son totipotentes (pueden dar lugar a cualquier tipo de célula del organismo), las del tubo neural son pluripotentes, es decir, pueden dar origen a todo tipo de células nerviosas, pero sólo nerviosas. Las células de este epitelio adquieren progresivamente características de neurona, siendo capaces de responder frente a estímulos ambientales y, además, de generar una respuesta eléctrica que se puede propagar. Estos mismos y otros factores de crecimiento actuarán a lo largo de todo el desarrollo del sistema nervioso y en la adultez estimulando el desarrollo de las células del sistema nervioso y protegiéndolas de noxas externas.

### A.2. PROLIFERACIÓN NEURAL:

Iniciado este tejido neural, entre los meses 2<sup>o</sup> y 4<sup>o</sup> de gestación, experimentará una fase de rápida replicación celular, que se origina en la periferia ventricular y alcanza una velocidad de hasta 250.000 nuevas células por minuto. A pesar de que no se conocen bien los factores que regulan la proliferación de los neuroblastos, se ha comunicado que algunos

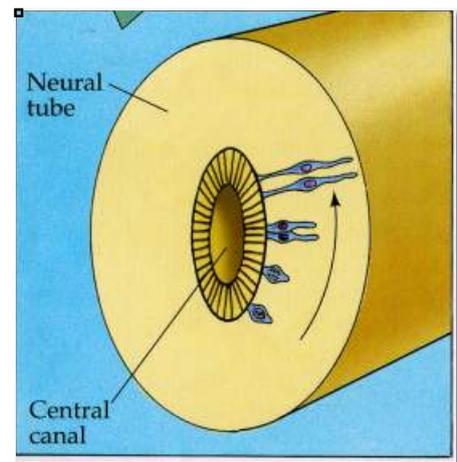
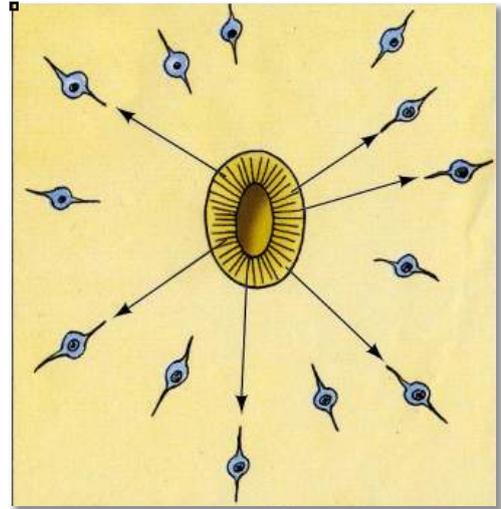


Figura 21. Proliferación neural (1)

neurotransmisores, como la serotonina, noradrenalina, acetilcolina, g-amino butirato (GABA) y dopamina podrían actuar como señales reguladoras de este proceso. Recientes estudios sugieren también que el péptido intestinal vasoactivo, la insulina y las hormonas tiroideas podrían intervenir en la regulación de la mitosis de los neuroblastos



*Figura 22. Proliferación neuronal (2).*

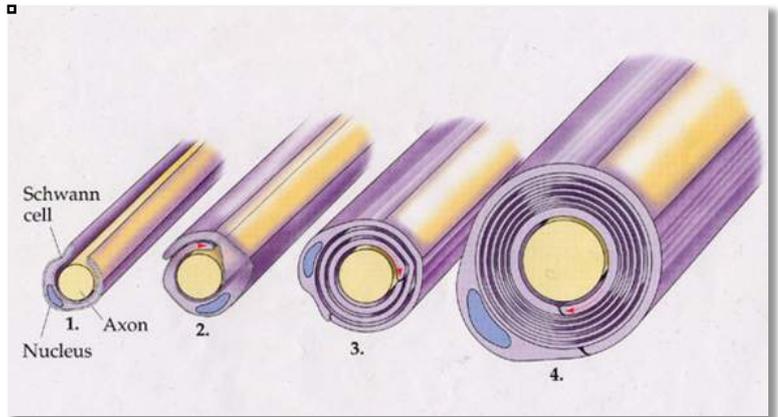
### **A.3. MIGRACIÓN, DIFERENCIACIÓN Y AGREGACIÓN.**

Entre el 3° y el 5° mes, estas nuevas neuronas, aún inmaduras (exclusivamente, soma y un axón rudimentario), emprenderán una fase de migración, si bien algunas de ellas migrarán durante toda la gestación y hasta durante el primer año. Este desplazamiento lo realizan guiadas por la disposición radial de algunas células glía, las cuales, al final de la gestación, y, en base a señales químicas, como las moléculas de adhesión celular (que favorecen la interacción entre las neuronas y las células glía) y factores de crecimiento neural, se transformarán en astrocitos fibrosos. A medida que migra, la neurona inmadura se va diferenciando.

Cuando las neuronas llegan a su localización definitiva, tienden a agregarse formando las diferentes capas de la corteza cerebral, o bien grupos nucleares. Moléculas de naturaleza glucoproteica y glucolipídica, denominadas moléculas de adhesión celular nerviosa (N-CAM), parecen intervenir en las interacciones entre neuronas, actuando como ligandos en la identificación y adhesión entre ellas.

#### A.4. MIELINIZACIÓN

La mielinización es el proceso por el que se forma una vaina de mielina alrededor del axón, la cual facilita la transmisión del impulso nervioso. Se inicia en la semana 11 del embarazo, pero es fundamentalmente un proceso postnatal y que se prolonga



*Figura 23. Mielinización del axón de una neurona.*

hasta la adolescencia. Sigue una progresión en sentido de cefálico a caudal y de proximal a distal, con ritmos completamente diferentes en las distintas áreas anatómicas. Así, el haz corticoespinal está totalmente mielinizado a los dos años de edad mientras que el cuerpo caloso lo está al llegar a la adolescencia y el área prefrontal de la corteza no lo hará hasta alrededor de los treinta años.<sup>38</sup>

#### B. FASE DE REORGANIZACIÓN

Esta fase comienza intraútero y se prolonga durante toda la vida<sup>39 40 41 42</sup> y en ella conviven diferentes procesos:

### B.1. DESARROLLO DE AXONES Y DENDRITAS

Una vez las neuronas han migrado y se han agregado en estructuras, los axones y dendritas inician su desarrollo hasta obtener su tamaño y morfología finales. Esto lo hacen influidos por los diferentes estímulos químicos de cada zona (atrayentes y repelentes), los cuales "dirigirán" las prolongaciones axónicas o dendríticas para establecer sinapsis, bien con otras neuronas, bien con otro tipo de células (por ejemplo, el músculo). Sabemos que este proceso depende íntimamente de la presencia de la célula glía, especialmente del astrocito y de un intercambio de sustancias químicas entre las zonas pre y postsinapsis.

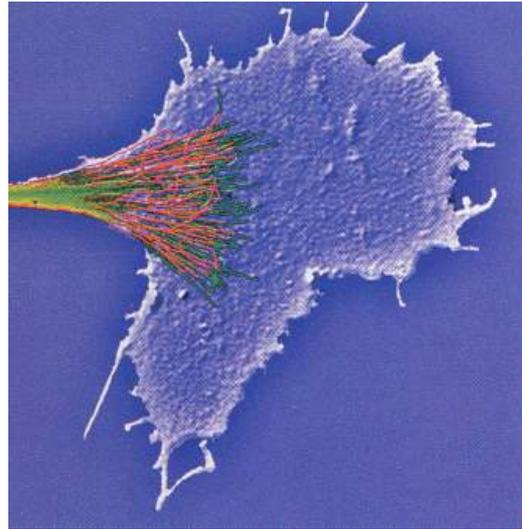


Figura 24. Sinaptogénesis.

Algunas de estas sustancias neurotróficas son bien conocidas, como la proteína S100B y otras, a las cuales se les atribuye funciones de estimulación del desarrollo y de la supervivencia neuronal, del crecimiento de axones y dendritas y de estímulo de sinaptogénesis.

### B.2. FORMACIÓN DE SINAPSIS

La *sinaptogénesis* (formación de sinapsis) se inicia a la vez que la migración neuronal, entre las 12 y 14 semanas, persiste en forma muy activa hasta el octavo o noveno mes de edad y, después, se mantiene durante toda la vida. Las conexiones sinápticas pueden ser "rígidas" en determinadas áreas como, por ejemplo, en las neuronas que controlan funciones autonómicas (respiración, ritmo cardíaco) y éstas están reguladas fundamentalmente por los genes. En cambio, en otras regiones, como las conexiones entre la retina y la corteza cerebral, las conexiones son más flexibles y se

pueden modificar hasta la edad de adulto

### *B.3. MUERTE NEURONAL Y REORDENAMIENTO DE SINAPSIS.*

Al llegar a la edad adulta dispondremos de un árbol neuronal de unos 100.000 millones de neuronas, con una red en la que cada neurona establece conexiones con otras 300.000. El crecimiento neuronal se ve limitado, por un lado, por la densidad de neuronas, es decir, cuando queda cubierta un área concreta se detiene la actividad mitótica; por otro lado, aparece un fenómeno de muerte natural o espontánea, denominado apoptosis, que implica a las neuronas que terminan su desarrollo sin establecer contacto periférico funcional suficiente. Por tanto, después de la migración, un porcentaje de neuronas que puede oscilar entre el 40 y 75% del total inicial debe morir y esto es absolutamente necesario para el desarrollo del sistema nervioso central. Es decir, que, en este contexto, la muerte neuronal es fisiológica. A mayor edad se encuentra menor número de neuronas y mayor cantidad de conexiones entre ellas.

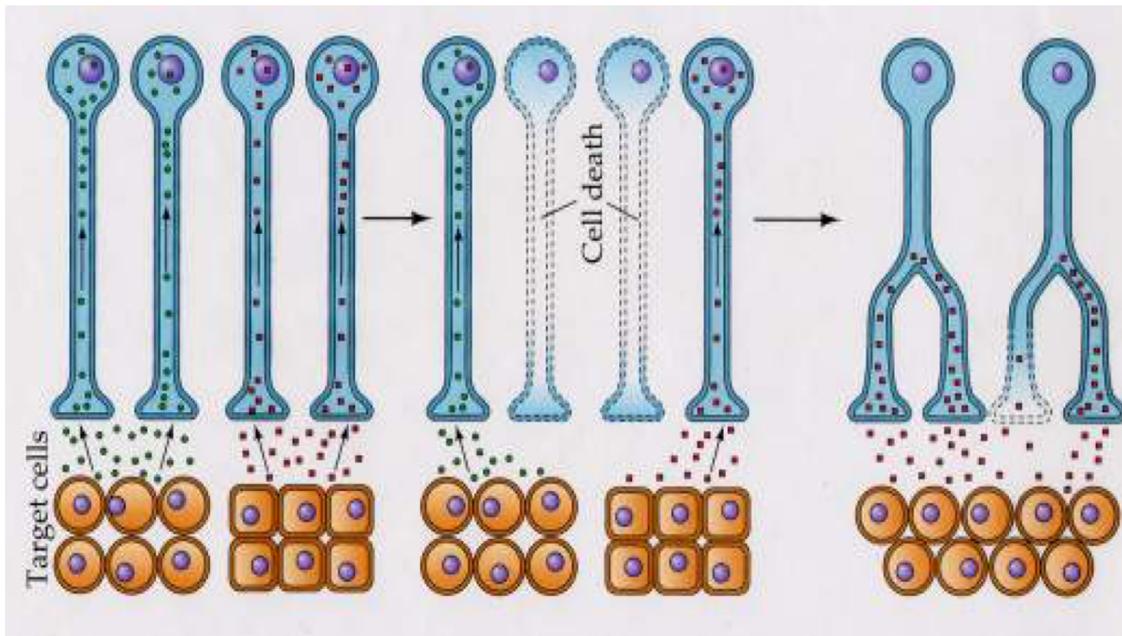


Figura 25. Limitación del crecimiento neuronal.

1. Liberación y absorción de factores neurotróficos.

2. Las neuronas que reciben insuficiente factor neurotrófico mueren.

3. Desarrollo axonal dependiente del factor neurotrófico.

#### B.4. MODIFICACIÓN DE LAS RESPUESTAS A NEUROTRANSMISORES

Con respecto a las posibilidades de modificación de las respuestas a un mismo receptor, algunos estudios señalan que las características funcionales del receptor de GABA en el cerebro inmaduro son diferentes e incluso opuestas a las que encontramos en el cerebro del adulto. En el cerebro en desarrollo, el GABA actúa como neurotransmisor excitador, en gran parte debido a una concentración intracelular relativamente alta de cloro en neuronas inmaduras, el cual disminuye durante el desarrollo, permitiendo que GABA llegue a ser progresivamente inhibitorio.<sup>43 44</sup>

## C. CONCEPTOS

### *C.1. PLASTICIDAD NEURONAL*

Si bien la primera fase del desarrollo del sistema nervioso parece estar regulada por factores genéticos y epigenéticos (fenómenos no mutacionales, pero que modifican la expresión de un gen),<sup>45</sup> la segunda fase, de reorganización, además de regulada genéticamente, es sensible a la experiencia, y es la base más importante de la **plasticidad** del sistema nervioso, (neuroplasticidad) referida a los procesos de desarrollo psicomotor, de aprendizaje o de recuperación de lesiones.<sup>46</sup>

### *C.2. PERÍODOS VULNERABLES*

La etapa de crecimiento y maduración acelerada del sistema nervioso central (SNC) se considera un “período vulnerable” a una serie de noxas, que al actuar van a producir patrones de daño especiales, diferentes a los que se puede encontrar en un cerebro maduro sometido a las mismas. El resultado puede ser, como en el adulto, la pérdida de funciones adquiridas, pero con mucha mayor frecuencia la no adquisición, retraso, o desviación en la adquisición de habilidades.

### *C.3. NEUROGÉNESIS EN EL ADULTO*

En los últimos años se ha demostrado proliferación neuronal (neurogénesis) en el hipocampo del cerebro adulto de mamíferos, incluyendo humanos, cuyo significado funcional es sujeto de discusión.<sup>47</sup> Se ha reportado que esta neurogénesis puede ser inducida por crisis epilépticas<sup>48</sup> y se ha involucrado en procesos de aprendizaje<sup>49</sup> y en la depresión mayor.<sup>50</sup>

FASE	EDAD	ACONTECIMIENTOS A NIVEL DE SNC
PRENATAL	Concepción a nacimiento	- Crecimiento físico rápido
LACTANCIA	Nacimiento a dos años	- Desarrollo motor
INFANCIA	Dos a doce años	- Pensamiento abstracto
ADOLESCENCIA	Trece a veinte años	- Creación de identidad - Razonamiento - Desarrollo del córtex pre-frontal

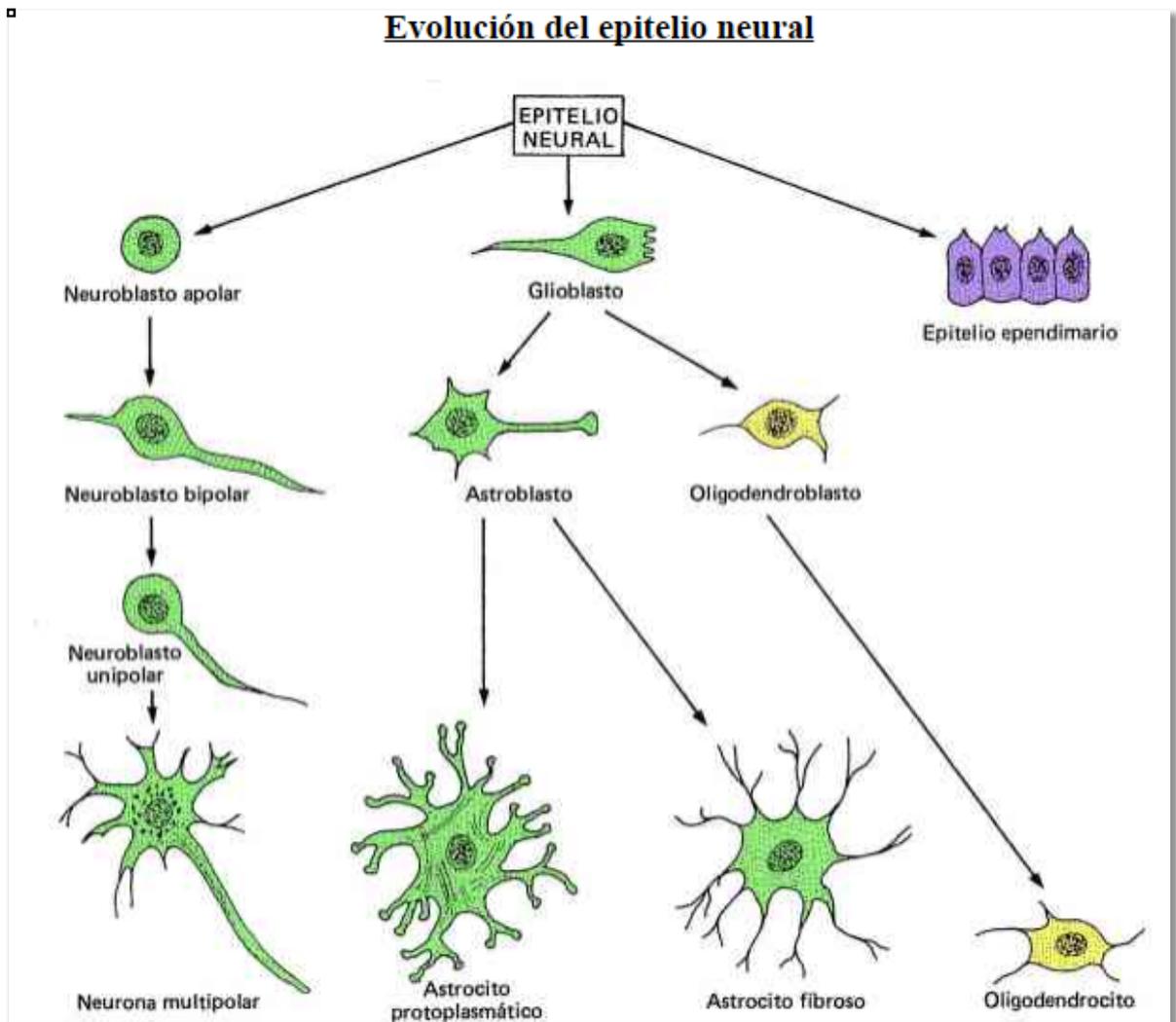
Figura 26. Acontecimientos en el desarrollo del sistema nervioso central humano.

### 2.2.3. CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Según habíamos descrito en el apartado anterior, el tubo neural y las crestas neurales son las estructuras primitivas de las cuales se va a generar todo el tejido neural posterior. Del tubo neural se originarán las neuronas, las células gliales (astrocitos, oligodendrocitos y células ependimarias) y los pinealocitos. La cresta neural dará lugar a las células de Schwann, las células aracnoideas y los melanocitos.

Las **células gliales** o células neuroglía se han considerado clásicamente un sistema de origen neural con función de nutrición y protección de las neuronas. Hoy sabemos que esta definición es muy simplista, que estas células están en permanente contacto con las neuronas

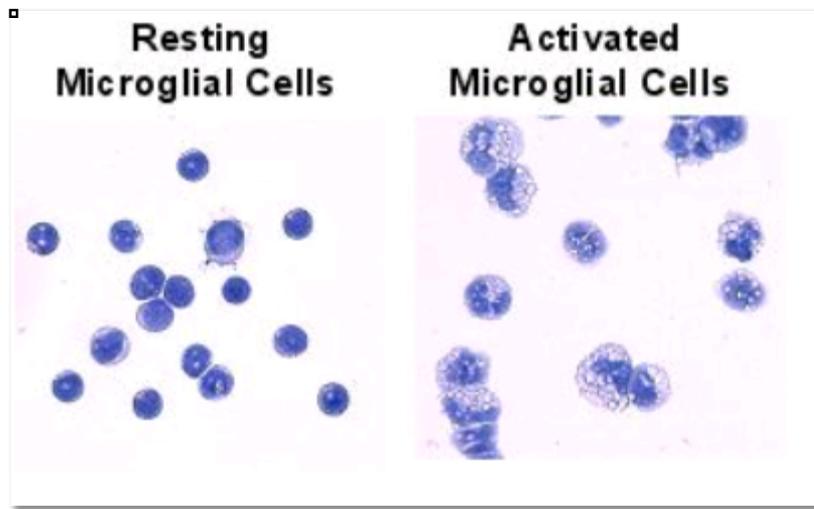
e implicadas en múltiples procesos como su proliferación, el desarrollo de axones y dendritas, la sinaptogénesis, etc. Constan de un cuerpo celular (soma), en el que están el núcleo y la mayoría de las organelas y, además, numerosas prolongaciones citoplasmáticas que, junto con los axones de las neuronas, constituyen una gran “red” denominada neurópilo, que da soporte a todo el tejido nervioso.



*Figura 27. Evolución del epitelio neural.*

Además de la glía de origen neural que hemos descrito, también denominada macroglía, se encuentra dentro del tejido nervioso la **microglía**, que es una célula derivada de los monocitos plasmáticos y se encuentra en el tejido nervioso en situación de reposo hasta

que tiene lugar algún proceso infeccioso o inflamatorio, el cual la activa y, al igual que el monocito se transforma en macrófago, ésta desempeña su función de fagocitosis.



*Figura 28. Microglías inactivas y activadas (fagocitosis).*

## **A. LAS NEURONAS**

Las neuronas son células de muy diferentes morfologías dependiendo de la región anatómica en la que se encuentran y de la función que desarrollan. Se considera que, una vez "termina" el complejo desarrollo del sistema nervioso, la neurona queda constituida como una célula altamente especializada y sin capacidad de reproducirse (aunque, ya lo hemos comentado previamente, este aspecto está en revisión en los últimos años).

La neurona se caracteriza por estar dotada de una altísima capacidad para ser excitada y, además, para transmitir este estímulo a otras células de sus proximidades o a distancia. El concepto de excitación se traduce, a nivel de su membrana plasmática, en un cambio de carga eléctrica que tiene lugar al generarse un flujo de iones a través de unas proteínas (canales) de su membrana. El flujo de iones va a conducir el impulso hacia el otro extremo de la neurona, generalmente hacia su proyección principal (el axón), en cuyo extremo

se traducirá en la secreción de una sustancia química denominada neurotransmisor, que generará un efecto sobre la siguiente célula de la cadena (otra neurona, una célula muscular, una célula endotelial vascular...). Se denomina a la célula receptora del impulso “célula blanco” y, la zona de contacto entre ella y la neurona, “sinapsis”. La neurona constará de un terminal sináptico con una membrana presináptica y la célula blanco su membrana postsináptica, estando separadas ambas por la hendidura sináptica.

El hecho de que la señal transmitida produzca un efecto excitatorio o inhibitorio sobre la célula blanco depende de la acción del neurotransmisor sobre la membrana postsináptica: al generar la apertura de los canales de cloro (Cl) dependientes del voltaje entrará ión Cl<sup>-</sup> en la célula blanco, lo cual generará una negativización interna de la membrana o hiperpolarización de la misma, que hace que ésta se inhiba. En cambio, si el neurotransmisor activa canales de sodio (Na), la entrada de Na<sup>+</sup> a la célula ocasionará una diferencia de potencial a ambos lados de la membrana que, si supera un “potencial umbral”, generará un potencial de acción capaz de transmitirse por toda la membrana.

Haremos a continuación un breve recuerdo histológico de la neurona.

Como hemos comentado, las neuronas presentan distinta morfología dependiendo de la región en la que están ubicadas. Algunas tienen forma de estrella, otras son fusiformes o esféricas. El cuerpo o soma contiene el núcleo y las organelas. El núcleo generalmente es grande y contiene una cromatina laxa, un nucléolo muy prominente y abundante citoplasma perinuclear. Las organelas son propias de una célula con gran actividad de síntesis proteica: abundante retículo endoplásmico rugoso, ribosomas, mitocondrias, aparato de Golgi, lisosomas, vesículas de transporte y otros.

Desde el soma surgen unas prolongaciones citoplasmáticas que pueden ser más o menos numerosas y se diferencian en dos tipos: las dendritas y el axón.

Las dendritas son proyecciones ramificadas del soma, no mielinizadas, generalmente

cortas y numerosas y que transmiten impulsos desde la periferia hacia el soma.

El axón es una prolongación única, más larga y mielinizada, que se encarga de transmitir estímulos nerviosos desde el soma hacia la célula blanco. Para ello, en el extremo más distal consta de terminales sinápticos, una serie de pequeñas ramificaciones que constituyen el teledendrón. Para que todas las sustancias necesarias, sintetizadas en el soma, lleguen hasta el final del axón la neurona consta de un sistema de transporte bidireccional constituido por microtúbulos y neurofilamentos, por el que se desplazan vesículas

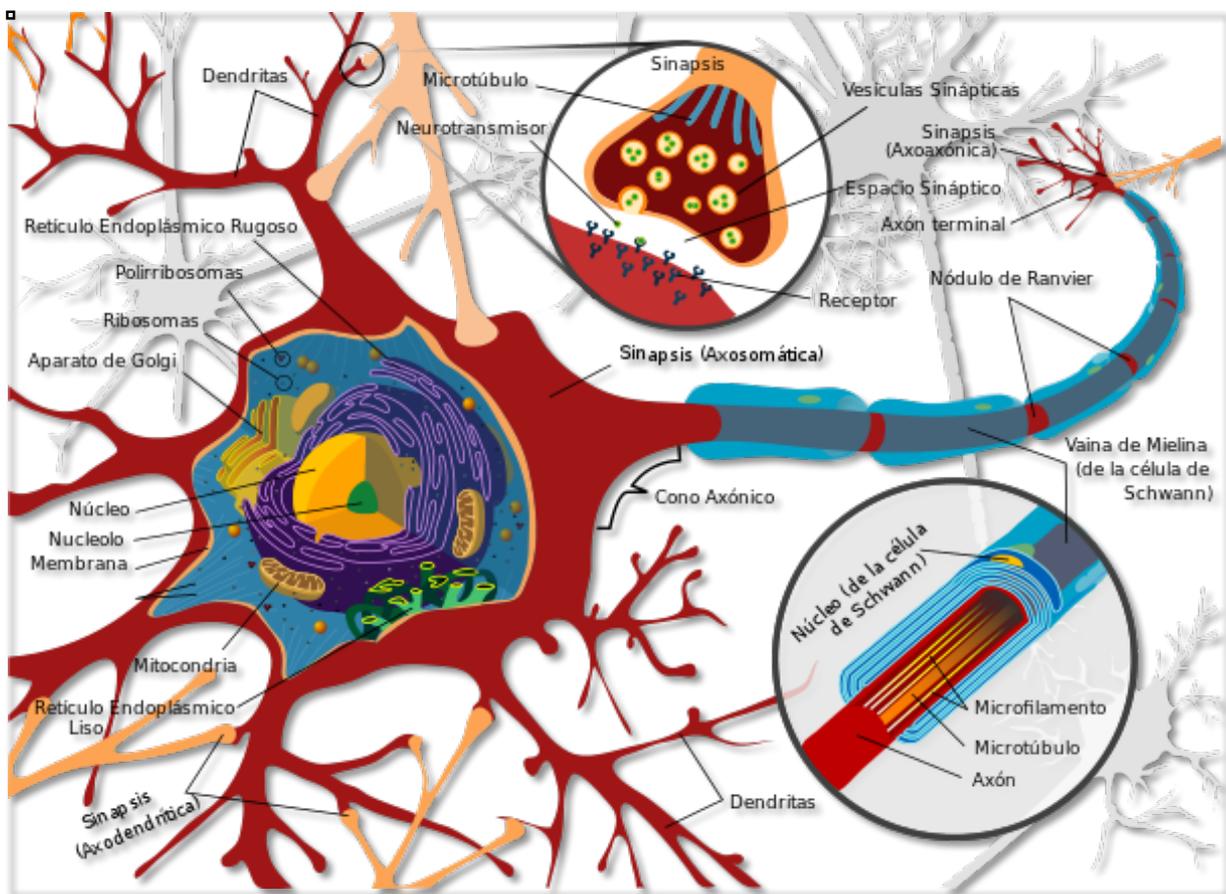


Figura 29. La neurona.

Podemos clasificar las neuronas en función de su morfología o de su función. En función de su morfología podemos definir los siguientes tipos:

- **Multipolares:** las neuronas con forma de estrella.
- **Bipolares:** las que constan de un axón y una sola dendrita.
- **Pseudomonopolares:** aquellas similares a las bipolares pero que, por la disposición de las dos prolongaciones parecen emanar ambas de un mismo cono axónico que se bifurca.
- **De morfología especial:** algunas, como las células de Purkinje del cerebelo, denominadas células en candelabro; piramidales, fusiformes, granulares, etc.

Según la función, las neuronas pueden ser clasificadas en dos grandes bloques:

- **Motoras:** son aquellas que reciben un estímulo a través de sus dendritas o su soma y generan un impulso nervioso que se transmite por el axón (vía eferente) a la célula blanco (un miocito, una célula ganglionar, otra neurona...). Generalmente son de morfología multipolar.
- **Sensitivas:** de morfología pseudomonopolar. Se localizan en los ganglios raquídeos (sistema nervioso periférico) y constan de una larga proyección que es una vía aferente que transmite los estímulos nerviosos desde la periferia (órganos de los sentidos, terminaciones nerviosas nociceptivas, de temperatura, tacto y presión, entre otras) hasta el soma localizado en el ganglio. Desde el soma, otra prolongación transmitirá el estímulo a la médula o al encéfalo, en el que se elaborará la respuesta. Existen algunas neuronas conectadas a las redes sensitivas localizadas en el sistema nervioso central, en grupos como los núcleos grises, dotadas de capacidad para integrar el estímulo recibido y determinar la vía de salida.
- **Interneuronas:** generalmente son neuronas bipolares pequeñas diseminadas por todo el sistema nervioso central y periférico intercaladas en las distintas redes neuronales.

## **B. NEUROGLÍA**

Hablaremos de esta célula neural desde el punto de vista de su ubicación en el SNC

o bien en el periférico.

### B.1. NEUROGLÍA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

A este nivel encontramos tres tipos de células bajo el denominador común de neuroglía: los astrocitos, los oligodendrocitos y las células ependimarias.

**Los astrocitos** son células que rodean completamente a la neurona, protegiéndola, para lo cual disponen de unas prolongaciones a modo de pies que se extienden sobre ellas. Las que rodean al soma (es decir, se localizan en la sustancia gris) se llaman astrocitos **protoplasmáticos** y las que rodean las dendritas y los axones (por tanto, se localizan en la

sustancia blanca) se denominan astrocitos fibrosos. Los astrocitos se interponen entre la neurona y las células vasculares o entre la neurona y las células ependimarias, de manera que filtran todo aquello que pueda llegar a la

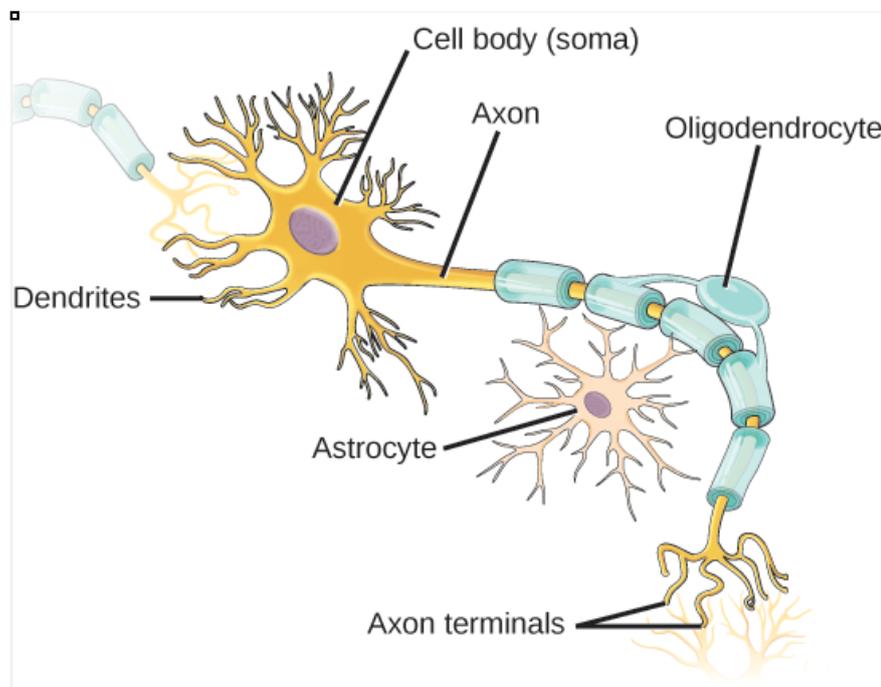


Figura 30. Oligodendrocitos.

neurona procedente de estos tejidos. Los astrocitos realizan además una función de homeostasis del entorno de la neurona y se ocupan de la eliminación de los neurotransmisores liberados en la sinapsis.

**Los oligodendrocitos** (oligodendroglía) son las células encargadas de la formación de la mielina que envuelve los axones de las neuronas.

**Las células endimarias** son un tipo especial de células glía que constituyen un epitelio que tapiza todas las cavidades internas del sistema nervioso central. Son células de morfología cúbica, cuya pared apical posee microvellosidades y, la basal, una prolongación que se inserta en el neurópilo. En algunas localizaciones concretas del sistema nervioso central, las células endimarias sufren una especialización y se convierten en productoras de líquido ceforraquídeo, obtenido de los vasos sanguíneos y procesado. En los ventrículos cerebrales laterales las formaciones constituidas por células endimarias productoras de LCR y los vasos se denominan plexos coroides.

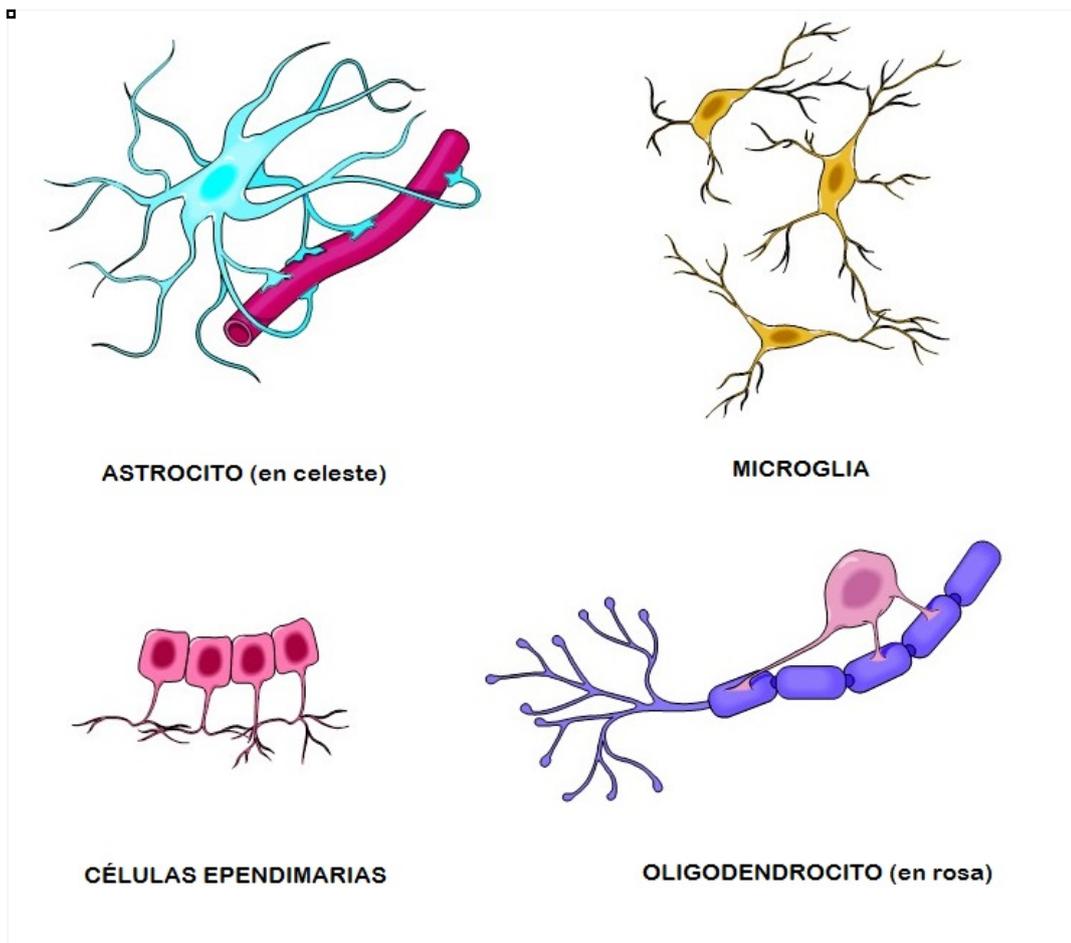
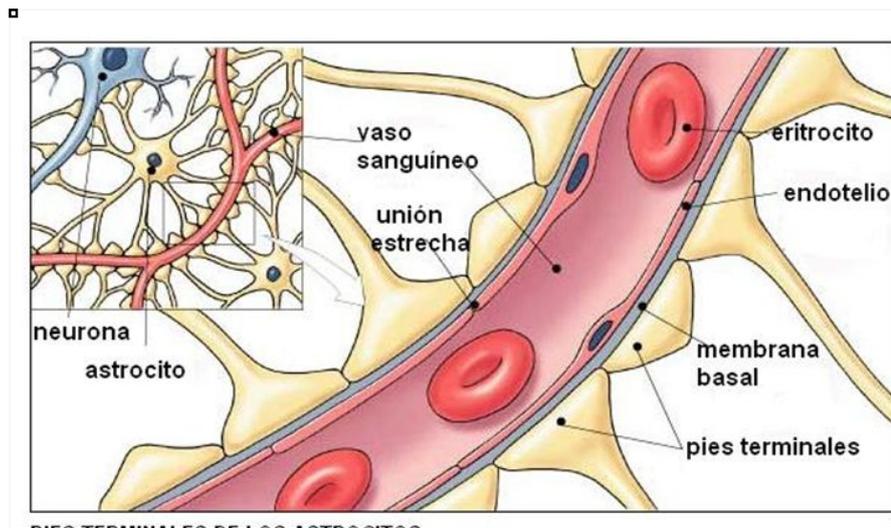


Figura 31. Las células de la neuroglía: astrocito, microglía y células endimarias.

Definidos los distintos elementos histológicos del sistema nervioso central podemos

comprender que la barrera física que se interpone entre los componentes de la sangre y las neuronas, denominada barrera hematoencefálica, está constituida por los pies (prolongaciones) de los astrocitos, el epitelio endotelial y la pared de los vasos sanguíneos capilares (que son de tipo continuo, con endotelio no fenestrado y membranas basales continuas).



*Figura 32. Barrera hematoencefálica.*

## **B.2. NEUROGLÍA EN EL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO**

A nivel del sistema nervioso periférico podemos encontrar a la célula glía en dos localizaciones:

En el ganglio nervioso, como célula satélite que rodea al soma de la neurona.

Y en el nervio, rodeando el axón, con la denominación de célula de Schwann. Estas células (equivalentes a la oligodendroglía del SNC pero en el SNP) están especialmente desarrolladas, de manera que se "estiran" tanto envolviendo al axón que su citoplasma queda

exprimido hasta desaparecer. Quedan, por tanto, alrededor del axón, las dos membranas plasmáticas de la célula de Schwann, es decir dos bicapas lipídicas, o cuatro capas de lípidos, a las cuales se denomina mielina.

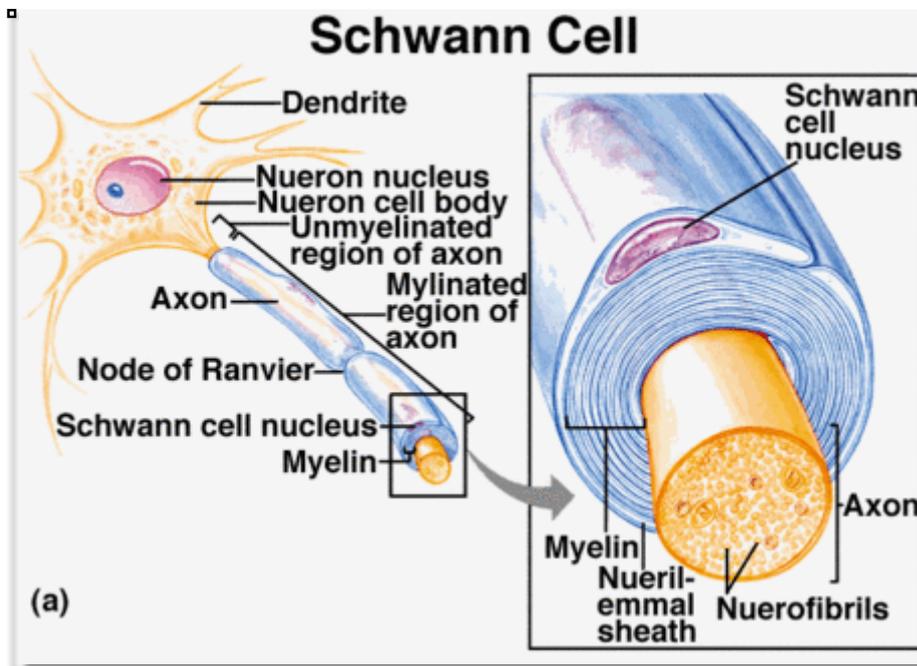


Figura 33. Estructura de la célula de Schwann.

## 2.3. EFECTOS DE LOS ANESTÉSICOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

### 2.3.1. INTRODUCCIÓN: EL DOBLE EFECTO DE LOS ANESTÉSICOS INHALADOS

En la actualidad, el uso de anestésicos generales en humanos alcanza enormes dimensiones: se estima que cada año cientos de millones de personas son sometidas a cirugía bajo anestesia general en todo el mundo y, sólo en Estado Unidos, seis millones de niños.

Estudios preclínicos en células y animales indican que los anestésicos generales, tanto intravenosos como inhalados, pueden inducir neurotoxicidad. Desde un punto de vista histológico, ésta se relaciona con fenómenos de neuroapoptosis de amplia distribución en el SNC y, a nivel funcional, con problemas de aprendizaje, de memoria y de comportamiento a largo plazo.

Algunos estudios relacionan la capacidad de neurotoxicidad de los anestésicos con el período de desarrollo del sistema nervioso central en el momento de acción del “tóxico”, concluyendo que su potencial dañino es máximo en los periodos en que el individuo atraviesa sus fases más activas de sinaptogénesis.

Sabemos que el período de máxima actividad de sinaptogénesis en el humano ocurre entre el sexto mes de gestación y los veinticuatro meses de vida. De aquí que, en los últimos años, las sociedades científicas de anestesistas y pediatras hayan lanzado a toda la comunidad científica mensajes de alarma en este sentido, sensibilizando acerca de la potencial neurotoxicidad de la anestesia en este período de la vida y, si bien aún carecemos de una evidencia suficiente como para modificar la práctica clínica de los anestesistas, sí se debe apelar al uso de la prudencia a la hora de sopesar los riesgos y beneficios de la anestesia general en recién nacidos y niños menores de 2-3 años.

Los autores Sunny Chiao and Zhiyi, ambos del Departamento de Anestesiología de la Universidad de Virginia, publican en el año 2014 en la revista *Brain Sciences* una interesante revisión de la bibliografía sobre este tema (*A Double-Edged Sword: Volatile Anesthetic Effects on the Neonatal Brain*), en la que concluyen que existen ya numerosos datos en modelos animales sobre toxicidad neuronal inducida por la anestesia y algunos sobre trastornos neurocomportamentales y cognitivos. Ahora bien, en humanos, concretamente en niños, tan sólo disponemos de algún estudio retrospectivo que haya identificado alteraciones neurológicas en niños pequeños después de la exposición neonatal a anestesia y cirugía. Carecemos, por tanto, hasta la fecha, de estudios prospectivos para evaluar los resultados neurocognitivos y neuroconductuales en niños pequeños después de la exposición a anestésicos inhalados. Bien es cierto que, en la actualidad, están en marcha tres grandes estudios clínicos prospectivos: los estudios PANDA, MASK y GAS, cuyos resultados esperamos arrojen luz a este delicado asunto.

Pues bien, hasta aquí hemos hablado sobre la neurotoxicidad de los anestésicos inhalados y en el siguiente apartado trataremos de ahondar en profundidad acerca de sus mecanismos a nivel bioquímico, sólo parcialmente conocidos. Pero esto es sólo una cara de la moneda de la acción de los anestésicos inhalados o, si se prefiere, uno de los "dos filos de su espada". Si por un lado empezamos a conocer sus efectos neurotóxicos, por el otro empezamos a vislumbrar otro contradictorio: me refiero, pues, a neuroprotección. Desde hace apenas una década, aparecen los primeros estudios que relacionan la exposición a agentes anestésicos inhalados con mayor supervivencia celular. Inicialmente en células cardíacas y más tarde en las del sistema nervioso central y otros órganos como hígado o pulmón. Surge así el concepto de "precondicionamiento" con anestésicos inhalados.

Los mecanismos bioquímicos de acción neurotóxica y neuroprotectora, en qué circunstancias predomina uno u otro efecto y otras muchas cuestiones al respecto son aún parcialmente desconocidos. En los siguientes dos apartados tratamos de reunir los

conocimientos disponibles sobre ambos aspectos: en primer lugar, el más antiguo, de neurotoxicidad, y a continuación el más reciente, de neuroprotección.

## **2.3.2. NEUROTOXICIDAD POR ANESTÉSICOS INHALADOS**

### **A. INTRODUCCIÓN: NEUROAPOPTOSIS.**

Como hemos descrito en el apartado previo, el desarrollo del cerebro humano es un proceso muy complejo en el que tienen lugar fenómenos de proliferación celular, de migración y de diferenciación, es decir, que las células se replican, se desplazan y, además, se especializan y distinguen unas de otras.

Esta “explosión” del crecimiento y maduración del SNC de los humanos se inicia en el útero materno y se prolonga durante los primeros años de vida, con un ritmo marcado genéticamente y diferente en cada región del sistema nervioso. Durante este proceso, las neuronas establecen contacto físico entre ellas y comienzan a construir circuitos sinápticos complejos. El período de máxima actividad de sinaptogénesis se concentra en la especie humana entre el sexto mes de gestación y los 24 meses de vida.

Cualquier exposición o insulto ambiental que, en ese momento, interfiera con alguno de estos procesos puede tener un impacto duradero en el desarrollo neurológico. A este respecto son conocidos los potenciales efectos de las drogas de abuso, la hipoxia, la hipoglucemia y, también, la exposición a agentes anestésicos.

Podemos decir que la vida comienza con un “exceso” de neuronas, que se recortan posteriormente de manera selectiva mediante la muerte celular programada o apoptosis. Pero este proceso está fuertemente influenciado por señales ambientales y externas y es, quizás,

en este punto (aunque podría no ser el único) en el que parecen ejercer su efecto negativo los agentes anestésicos, de manera que, por mecanismos aún sólo parcialmente conocidos, inducirían a morir mediante apoptosis a células que genéticamente no estaban destinadas a este fin.

## **B. ACTIVACIÓN DE LA NEUROAPOPTOSIS**

Sabemos que la apoptosis puede estar desencadenada mediante dos vías o mecanismos diferentes: uno, intrínseco (mitocondrial), y otro, extrínseco (vía “receptores de muerte”).

El mecanismo intrínseco se produce por una disfunción de la mitocondria, lo cual acarrea una liberación desde la misma de citocromo C al citosol y esto induce la activación de la caspasa-9.

La vía extrínseca se activa mediante unos receptores transmembrana denominados receptores de muerte y la caspasa-8.

Ambas vías confluyen en una vía común de activación de la caspasa-3.

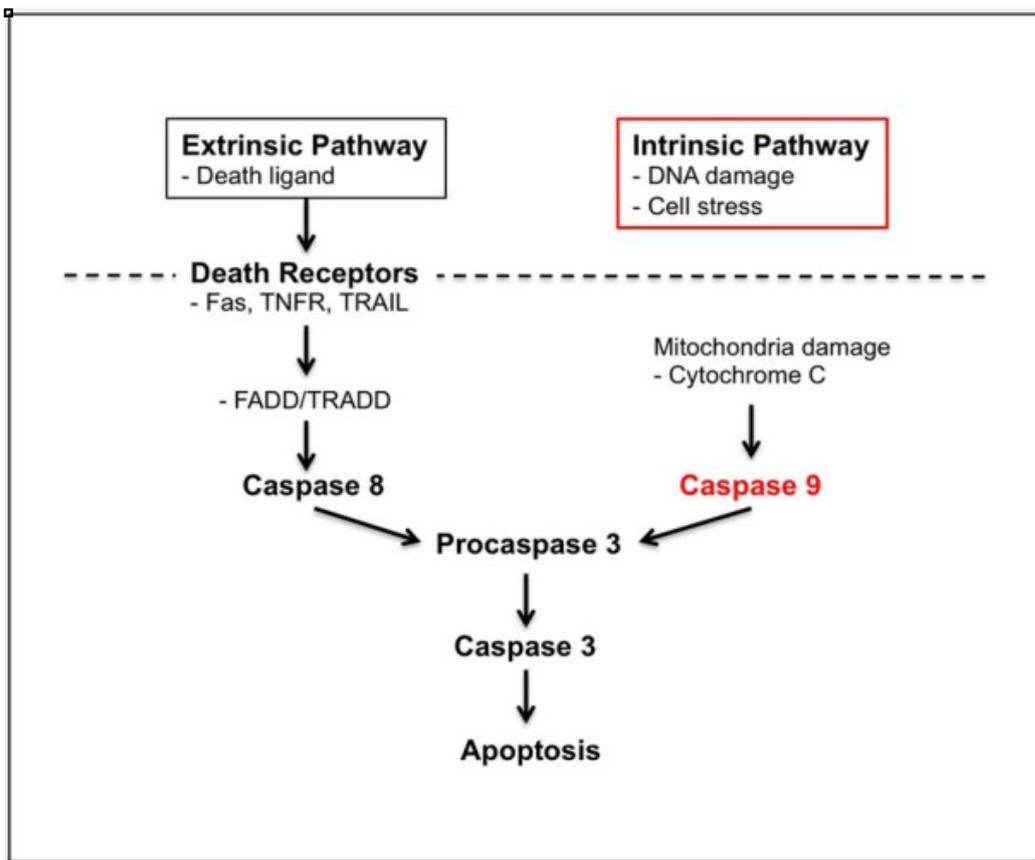


Figura 34. Vías intrínseca y extrínseca para la activación de la neuroapoptosis.

La muerte celular mediante apoptosis se puede describir en tres períodos o fases cronológicas: de inducción, de ejecución y de degradación.

En la fase de inducción, la célula detecta la orden de morir. Esta orden puede proceder del interior de la propia célula (vía intrínseca) o bien del exterior (vía extrínseca). Las señales externas (algunas bien conocidas como el factor de necrosis tumoral-TNF o el Fas-L del linfocito T killer) actúan con los dominios extracelulares de unas proteínas transmembrana (la TNFR 1 o el FAS-CD95), de manera que esta interacción provoca la activación de otros dominios de la proteína transmembrana localizados en su vertiente intracelular. Son los dominios denominados *Death Domain* (DD), los cuales desencadenarán una cascada de activación de diferentes enzimas que se van a encargar de la segunda fase de la apoptosis.

En la segunda fase o de ejecución, actúan las enzimas activadas, como la proteína citocromo C, la familia de proteínas Bcl-2 y las caspasas, que desarrollan una proteólisis de las diferentes estructuras de la célula.

En la tercera fase o de degradación, los restos de la proteólisis enzimática previa son fagocitados por otras células de la proximidad y posteriormente degradados por las enzimas de sus lisosomas.

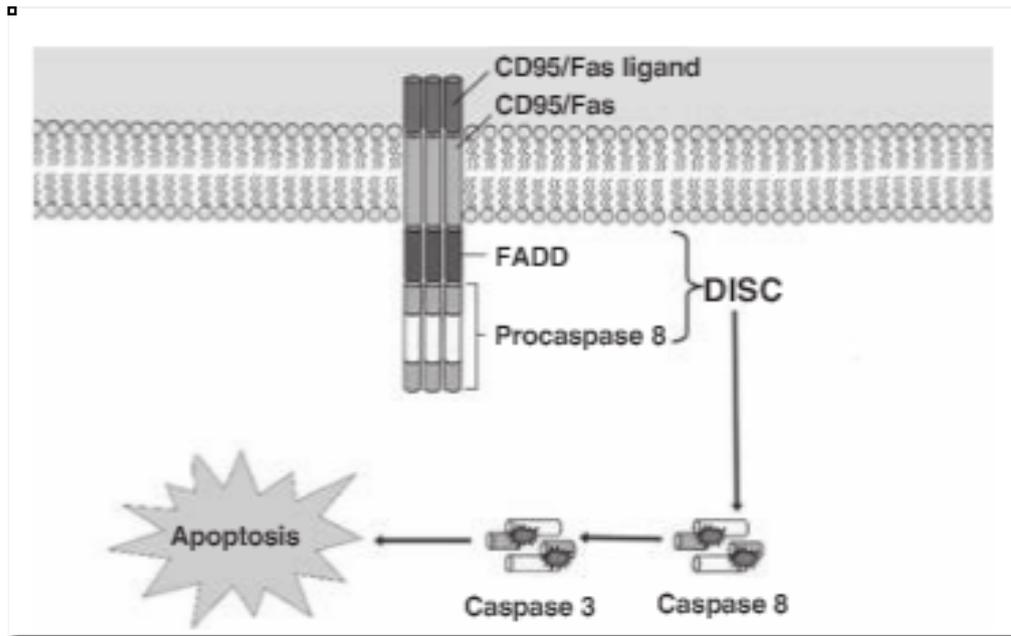
## **C. LAS SEÑALES APOPTÓTICAS**

### **C.1. LAS CASPASAS**

Toda apoptosis es una muerte celular mediada por caspasas.<sup>51</sup>

Las caspasas son una familia de proteínas (en los mamíferos se conocen quince), la mayoría de las cuales están implicadas en el desenlace de la apoptosis, ya sea como iniciadores de caspasas (caspasas 2, 8, 9 y 10) o como efectores de caspasas (caspasas 3, 6, 7). Estas enzimas existen en el citosol de las células como precursores enzimáticos inactivos, hasta que, mediante fragmentación, se convierten en enzimas activos.

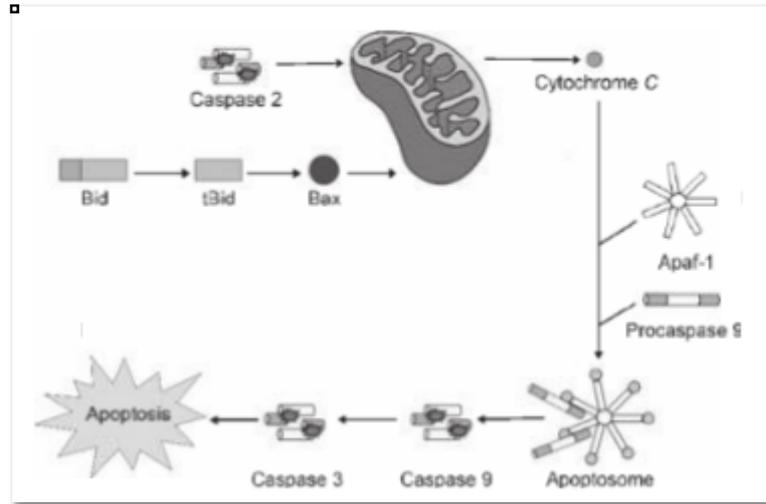
Existen dos mecanismos de activación del sistema de las caspasas: uno intrínseco y otro extrínseco.



*Figura 35. Vía extrínseca de activación de las caspasas.*

La vía extrínseca se activa típicamente a través de receptores de muerte en la membrana plasmática.

Algunas de las señales externas son bien conocidas, como el factor de necrosis tumoral-TNF o el Fas-L del linfocito T killer) y actúan con los dominios extracelulares de unas proteínas transmembrana (la TNFR 1 o el FAS-CD95), de manera que esta interacción provoca la activación de otros dominios de la proteína transmembrana localizados en su vertiente intracelular (DD o dominios de muerte). El FADD (receptor de factor de necrosis tumoral tipo 1 asociado al dominio de muerte) forma un complejo (DISC), junto con la procaspasa 8, dando lugar a la activación de la caspasa 8 y ésta activa subsecuentemente a la caspasa 3, efectora final de lisis.



*Figura 36. Vía intrínseca de activación de las caspasas.*

La vía intrínseca está mediada por la mitocondria. Ésta puede ser estimulada por diferentes agentes, como los quimioterápicos, la radiación ultravioleta, el estrés oxidativo o el daño al DNA.<sup>52</sup> La membrana de la mitocondria se permeabiliza y deja pasar al citosol de la célula el citocromo C. En el mecanismo de apertura de la membrana de la mitocondria están implicadas una familia de proteínas denominadas Bcl-2 (en el esquema las proteínas Bid y Bax, la última de las cuales puede inducir la permeabilización de la membrana de la mitocondria). La proteína Bax también puede ser activada mediante la caspasa 2 (la cual se estimula en caso de lesión del DNA celular, de forma que este punto es una vía de unión entre el daño genómico y la apoptosis). La liberación de proteínas de la mitocondria va acompañada de una pérdida de su función como orgánulo generador de energía, ya que se afecta el proceso de transporte electrónico.

El citocromo C liberado se une a una molécula de adaptador, denominada Apaf-1, que recluta y oligomeriza la pro-caspasa 9, dando como resultado un complejo denominado apoptosoma que, finalmente, activa a la caspasa 3, la principal caspasa efectora.<sup>53</sup> Esta última y otras más, finalmente, realizarán cortes en la cadena polipeptídica de las proteínas y en la cadena de DNA, que son los mecanismos por los que la célula muere y sus restos son

reabsorbidos por células vecinas.

### *C.2. LA FAMILIA BCL-2 (B-CELL LYMPHOMA)*

Se han identificado hasta veinticinco miembros de esta familia. Algunos de ellos ejercen una función pro-supervivencia o antiapoptótica: Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W MCL, Bcl2A1 y Bcl-B. Se encuentran situados en la cara citosólica de la membrana de las mitocondrias, retículo endoplásmico y el núcleo, y ejercen su acción inhibiendo la activación de las caspasas.

En cambio, otras proteínas de esta misma familia ejercen la función opuesta, es decir, son proapoptóticas. Se encuentran en el citosol. Son la Familia BH3 (Bad, Bid, Bik, Blk, BimL, PUMA, NOX, BMF, HRK) y la familia Bax/Bak (Bax, Bak, Bok).

La función efectora final de esta familia de proteínas es promover, o no, la liberación de citocromo C desde la mitocondria hasta el citosol, donde activa la procaspasa-9 a caspasa-9, que finalmente activará a la caspasa 3. <sup>54 55 56 57 58 59 60</sup>

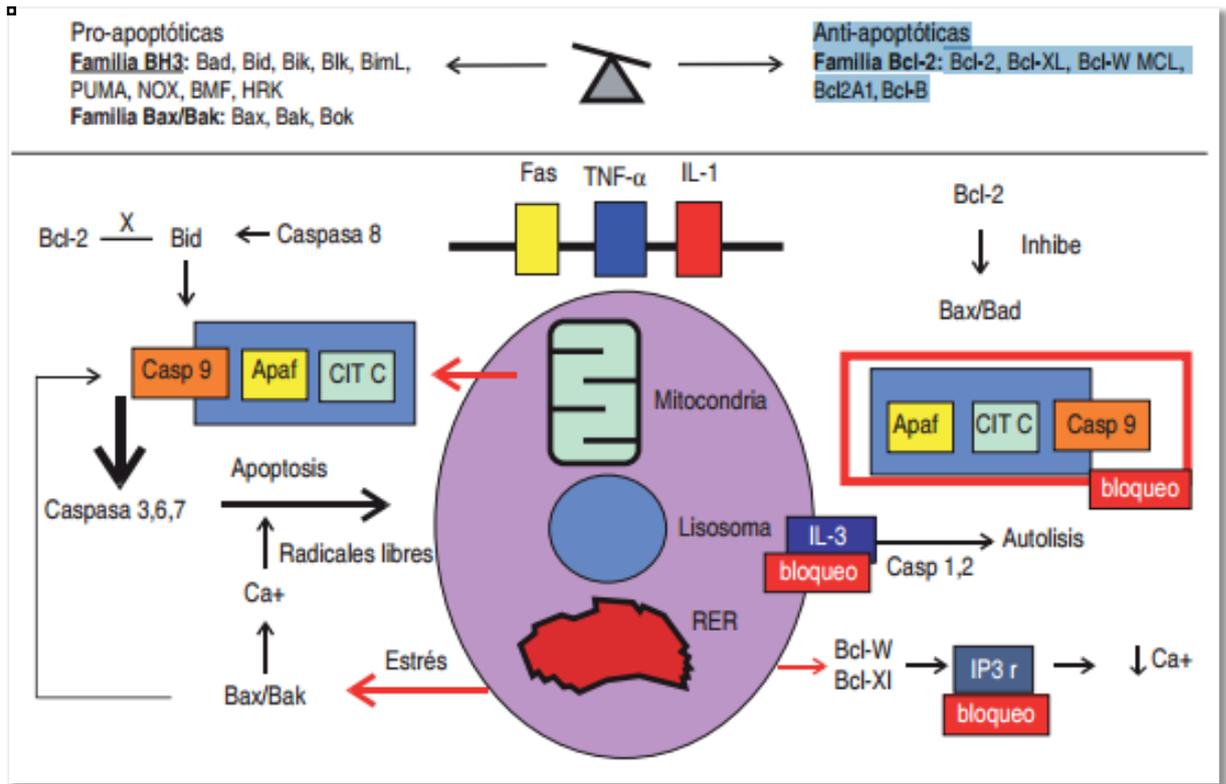


Figura 37. Apoptosis iniciada por la familia Bcl-2.

El resultado final depende del equilibrio entre las de acción proapostótica y las antiapostóticas.

### c.3. LOS ROS (REACTIVE OXIGEN SPECIES)

Son un conjunto de moléculas que se originan de forma natural tras el metabolismo del oxígeno. Entre ellas se encuentran los iones de oxígeno, los peróxidos y los radicales libres. Se dice de ellas que son especies reactivas pues poseen una capa de electrones no apareados.

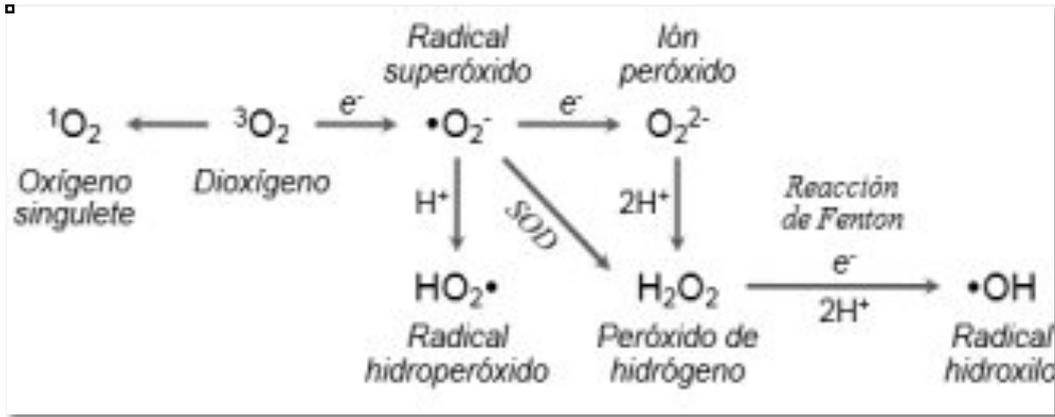


Figura 38. Especies reactivas de oxígeno (ROS).

Juegan un papel fundamental en la señalización de muerte celular mediante apoptosis.<sup>61</sup>

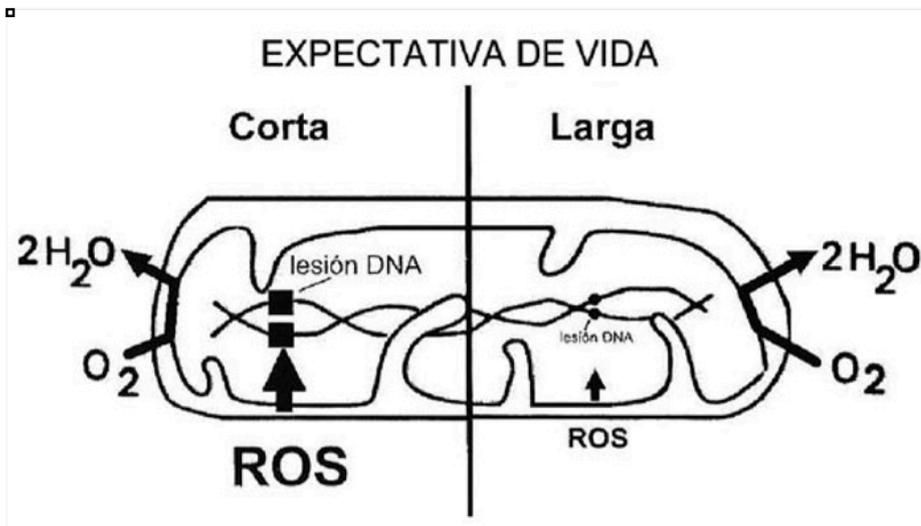


Figura 39. Señalización de la muerte celular por ROS.

La evidencia hasta la fecha ha implicado mecanismos dependientes de redox en la liberación de citocromo C desde la mitocondria al citosol, así como en la activación / inactivación reversible de las caspasas en el control de la ejecución apoptótica. Algunas de

estas acciones las realiza interactuando con otros sistemas de cascadas de señales como los MAPKs (proteínas quinasas activadas por mitógenos).

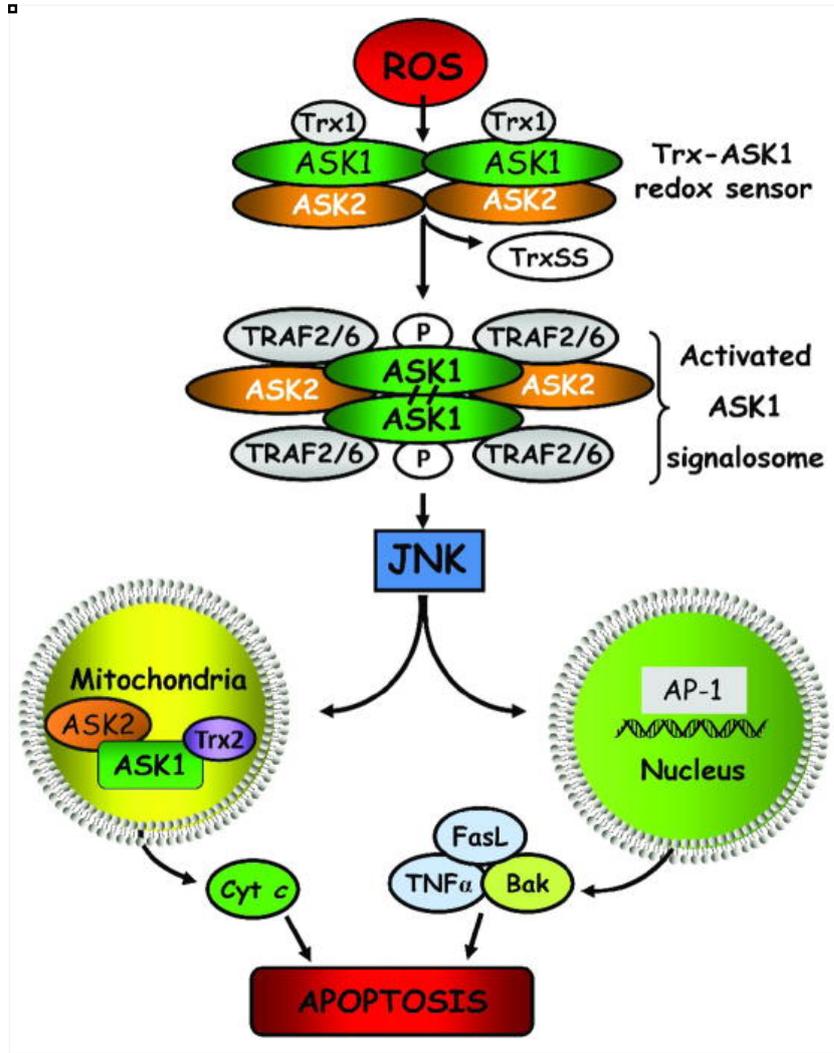


Figura 40. Señalización de la célula mediante ASK-1 inducida por ROS.

#### C.4. LAS MAPK Y LOS JNKs

Las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) son una familia de proteínas quinasas serina / treonina, implicadas en una gran variedad de procesos celulares fundamentales, tales como proliferación, diferenciación, motilidad, respuesta al estrés, apoptosis y supervivencia. Las MAPK más conocidas incluyen la quinasa regulada por señal

extracelular 1 y 2 (Erk1 / 2 o p44 / 42), las quinasas N-terminales 1-3 (JNK1-3) / cinasas activadas por estrés c-Jun (SAPK1A, 1B, 1C) y las isoformas p38 (p38 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ ) y Erk5. <sup>62</sup>

Una amplia gama de estímulos extracelulares, como algunos mitógenos, citoquinas, factores de crecimiento y los ROS, estimulan la activación de una o más proteínas de esta familia, las cuales podemos decir que "amplifican" la señal, fosforilan una amplia variedad de sustratos citoplásmicos y proteínas de unión al ARN, o bien se traslocan al núcleo, donde fosforilan proteínas reguladoras del ciclo celular.

Las quinasas c-Jun N-terminal (JNKs), son un tipo de MAPK's.

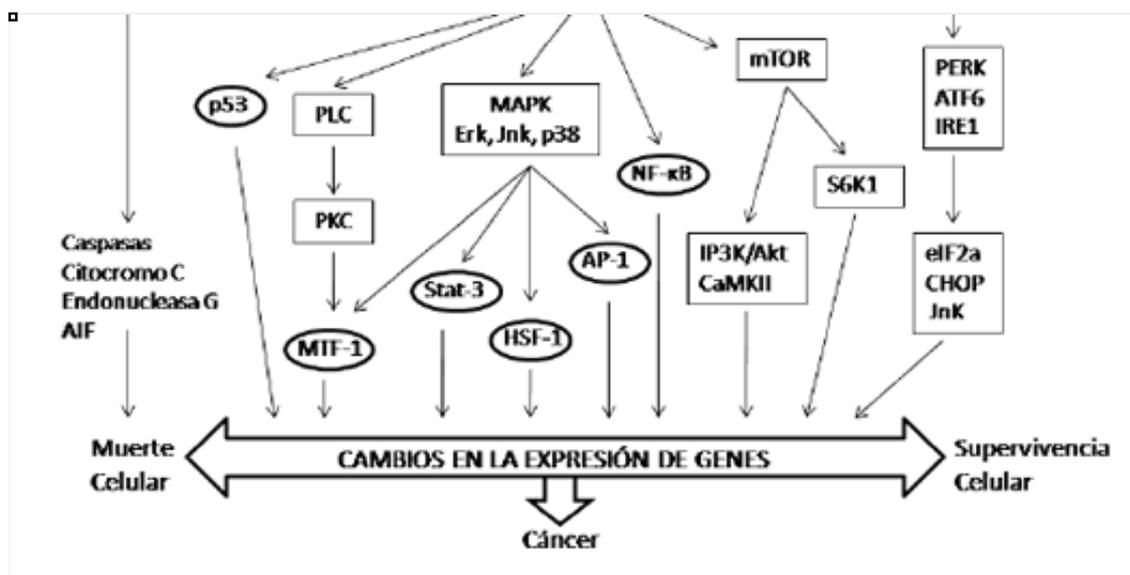


Figura 41. Implicaciones de la MAPKs en amplificación de señales, expresión génica y ciclo celular.

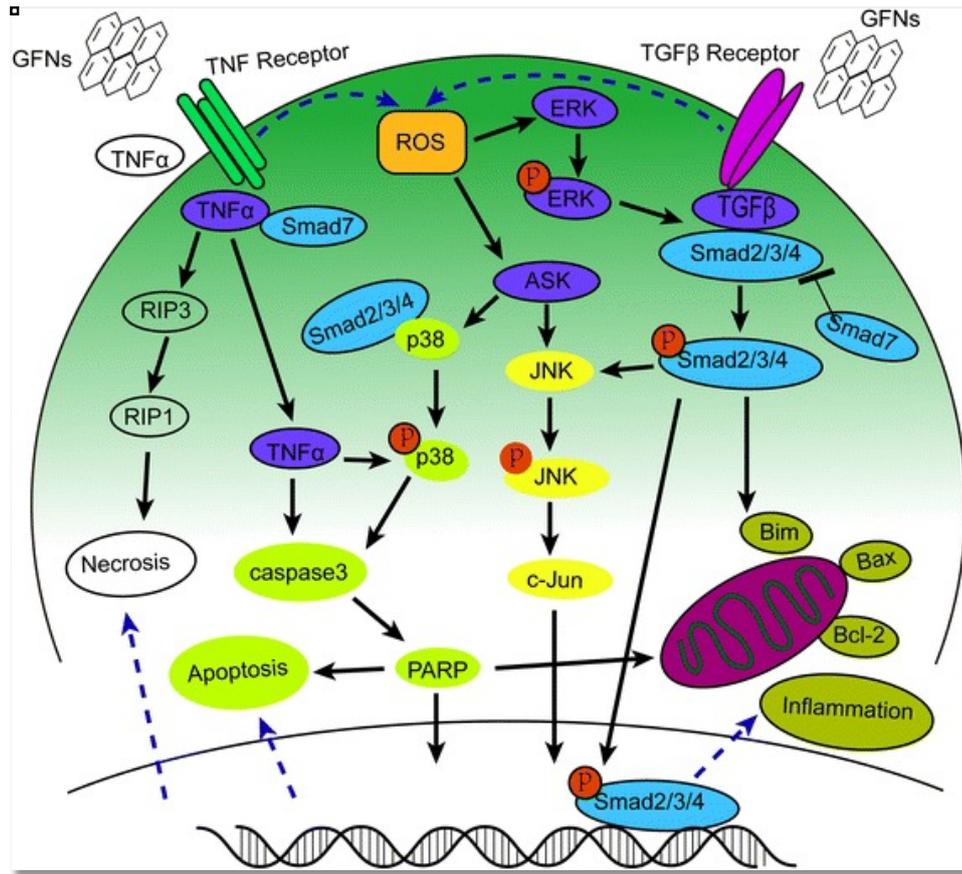


Figura 42. Implicación de la MAPKs en distintos procesos celulares, incluida apoptosis.

### C.5. LA P-53

La p53 es una proteína supresora de tumores, codificada por un gen situado en el brazo corto del cromosoma 17. Ante determinadas situaciones (mutaciones o tóxicos), la célula expresa que ha sufrido un daño irreparable activando la p53, la cual induce la muerte celular programada. Esta muerte la desencadenará uniéndose al ADN y regulando la expresión de distintos genes, lo cual provoca, por un lado, la detención del ciclo celular entre la fase G y S y, por otro, la codificación de proteínas Bax (proapoptóticas).<sup>63</sup>

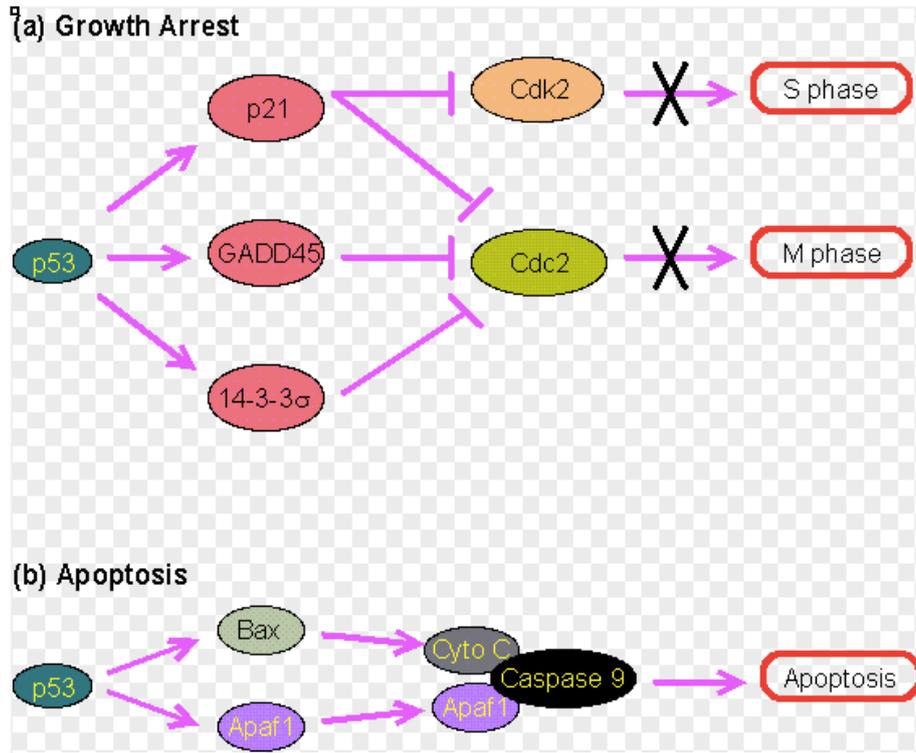


Figura 43. Mecanismos de actuación propuestos para la proteína p53

Existen multitud de mecanismos bioquímicos implicados en la génesis de la apoptosis celular. Hemos querido destacar los anteriores pues, como veremos más adelante, estos procesos sufren modificaciones cuando los individuos se exponen a agentes anestésicos halogenados. La siguiente imagen puede servir de resumen visual de todos estos mecanismos estudiados *in vitro*: la activación de la vía extrínseca, desde la membrana celular o la vía intrínseca, desde la mitocondria; el aumento de las Bcl-2, sobre todo de las Bax y Bid; la activación de las JNK y del gen p 53 a través de los ROS. El resultado final es la muerte celular programada y, sorprendentemente, el sevoflurano y otros agentes inhalados han demostrado *in vitro* tanto inducir algunos de estos mecanismos, promoviendo neuroapoptosis, como frenar e incluso invertir otros de ellos, promoviendo la supervivencia celular.

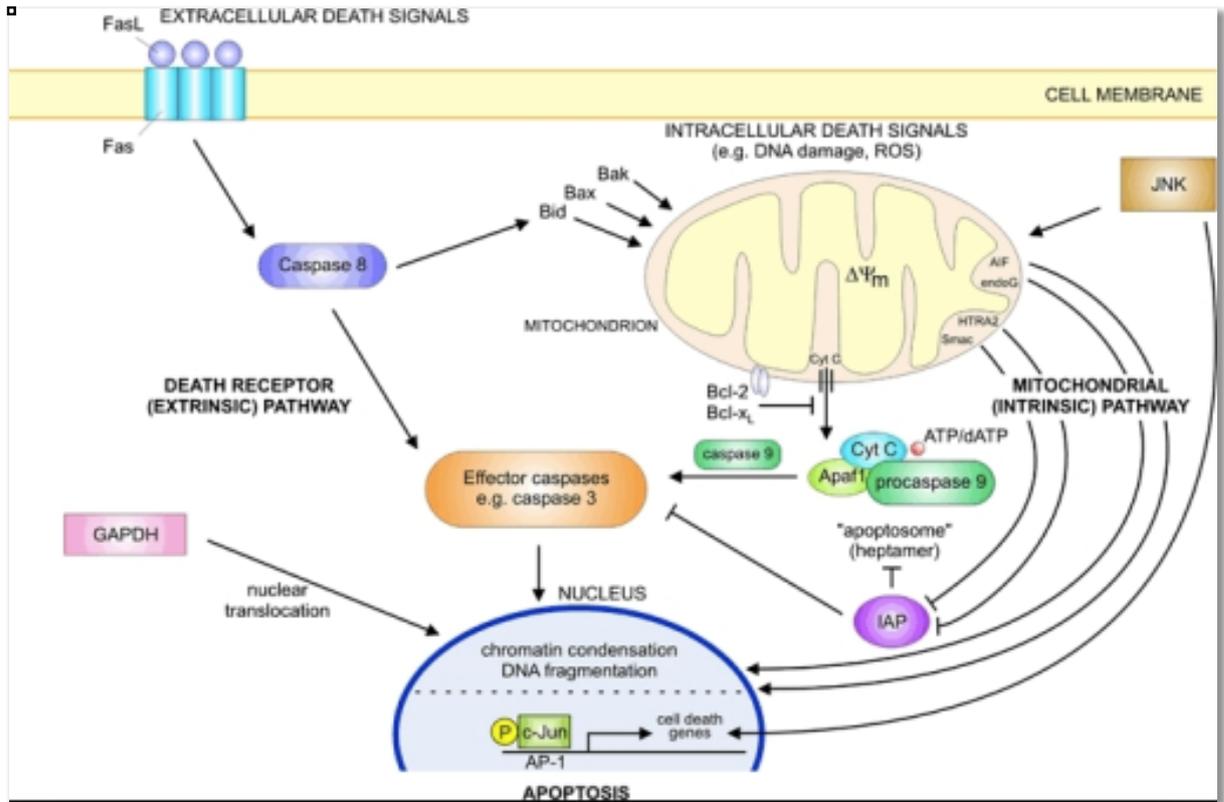
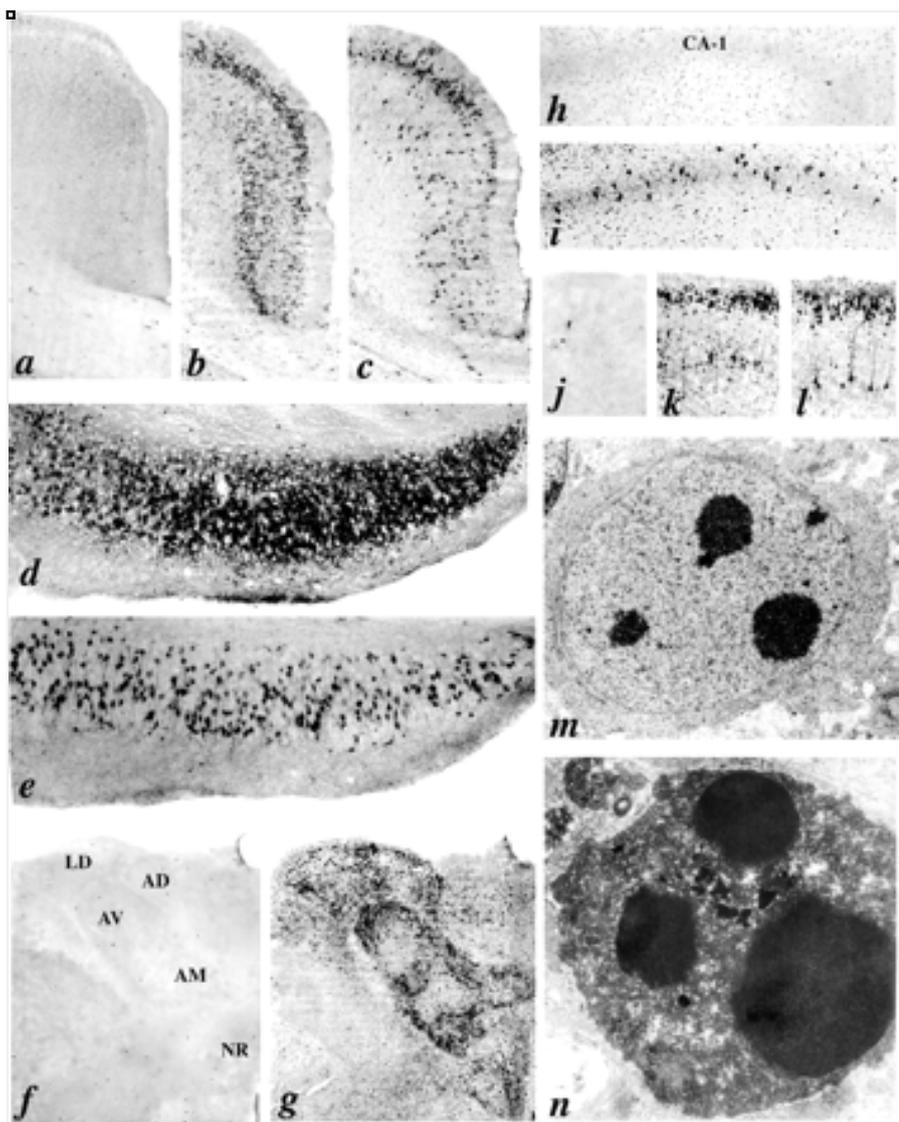


Figura 44. Vías intrínseca y extrínseca de activación de apoptosis.

#### D. NEUROTOXICIDAD POR ANESTÉSICOS INHALADOS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN Y HUMANOS

Hace escasamente una década comienzan a aparecer en revistas científicas los primeros trabajos que relacionan la exposición de animales de experimentación a anestesia general con resultado de muerte de neuronas y células glía mediante mecanismos de apoptosis.<sup>64 65</sup>

Uno, de gran trascendencia en la comunidad científica, es el de la Dra. Vesna Jevtovic-Todorovic y colaboradores, publicado en la revista *The Journal of Neurosciencie* en el año 2003.<sup>66</sup> Se trata de un trabajo realizado en ratas de siete días de vida, a las que someten



*Figura 45. Cortes histológicas cerebrales al microscopio electrónico.*

*Corresponden a ratas control (a, f, h, j) y ratas expuestas al cóctel anestésico triple (b-e, g, i, k, l). Algunas secciones se tiñen con el método de plata De Olmos (a, b, d, f, g, k), y el resto se tiñen inmunocitoquímicamente para revelar la activación de caspasa-3 (c, e, h-j, l).*

a un cóctel anestésico con midazolam, sevoflurano y óxido nítrico (NO<sub>2</sub>), tres fármacos extensamente utilizados en aquel momento y en la actualidad. Inmediatamente sacrifican a una fracción de la muestra, para analizar histológicamente sus tejidos cerebrales, y el resto es sometido a una evaluación del comportamiento y el aprendizaje durante varios meses después. Para el análisis histológico tiñen con el método de plata De Olmos y también con

inmunohistoquímica la caspasa 3. Visualizan las muestras bajo microscopía electrónica. Sus resultados son de una enorme relevancia clínica: se observa un incremento muy significativo de neuroapoptosis en la mayoría de las áreas analizadas del cerebro de ratas anestesiadas comparado con el cerebro de las ratas control. Concluyen que se trata de un proceso de apoptosis, y no de necrosis, tanto por las características microscópicas de las células dañadas en la tinción con plata como por el marcaje inmunohistoquímico de la caspasa 3, enzima íntimamente ligada al mecanismo de apoptosis.

En cuanto a la evaluación clínica del aprendizaje y la memoria espacial de las ratas, observan, también, con significación estadística, un déficit en las ratas expuestas.

Estos hallazgos son consistentes con otra evidencia reciente para los investigadores de que la neurodegeneración apoptótica puede ser inducida en el cerebro de ratas en fase de desarrollo por fármacos que bloquean receptores NMDA,<sup>67</sup> fármacos que hiperactivan receptores GABAA o, más intensamente, etanol,<sup>68</sup> que tiene tanto un efecto antagonista NMDA como agonista GABAA. La mayoría de los anestésicos generales utilizados actualmente ejercen en mayor o menor medida un bloqueo de receptor de NMDA o una estimulación GABA.

Posteriormente aparecen hallazgos similares en cerebro de ratas que han sido anestesiadas, no con varios agentes a la vez, sino exclusivamente con sevoflurano.<sup>69</sup>

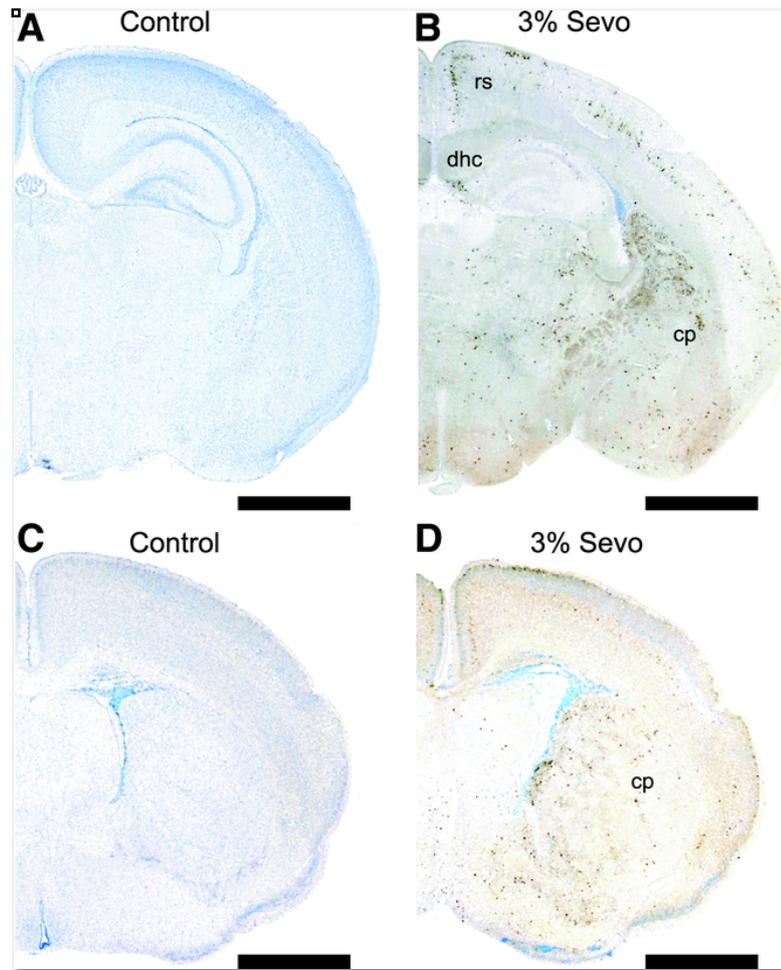


Figura 46. Aumento de la actividad caspasa 3 tras exposición a sevoflurano.

Este estudio demostró que la administración única de sevoflurano a ratones recién nacidos también causa un aumento significativo de neuroapoptosis en el cerebro, en comparación con los controles expuestos sólo a aire, en varias regiones cerebrales principales y, además, con asociación a anomalías del comportamiento social de los ratones y déficits en sus reacciones de condicionamiento auditivo.

Estos hallazgos para el sevoflurano son consistentes con hallazgos de Johnson *et al*<sup>70</sup> que realizan un estudio similar en ratones recién nacidos, pero con diferente halogenado: el isoflurano. Encuentran que también desencadena una respuesta de neuroapoptosis significativa en el cerebro del ratón. Sus resultados sugieren fuertemente la asociación con un

déficit de aprendizaje y, además, este estudio también mostró que la exposición de los ratones neonatal al sevoflurano inhalado causó déficit en el comportamiento social.

Para entender el mecanismo por el cual los anestésicos generales inducen la muerte apoptótica neuronal, los autores Yon *et al*<sup>71</sup> estudiaron las dos vías apoptóticas conocidas: la vía intrínseca y la vía extrínseca y, además, lo hicieron en diferentes puntos temporales durante la sinaptogénesis (ratones de siete días de edad, momento de pico de actividad sinaptogénica, y ratones de 14 días, cuando esta fase ya ha terminado).

Se encontró que la vía intrínseca se activa tempranamente durante la exposición a la anestesia (en dos horas), medida por la regulación negativa de bcl-xL, la regulación positiva del citocromo C y la activación de la caspasa-9 en ratas de siete días de edad, pero permanece inactivada en ratas de catorce días de edad.

La vía extrínseca se activa más tarde (alrededor de las seis horas de exposición a anestesia), medida por la regulación positiva de la proteína Fas y la activación de la caspasa-8, en ratas de siete días de edad, pero también permanece inactivada en ratas de catorce días.

Con este interesante estudio concluyen, por un lado, que la neurodegeneración apoptótica inducida por la anestesia es dependiente de la edad, con una vulnerabilidad estrechamente correlacionada con el momento de la sinaptogénesis, es decir, el cerebro en desarrollo es más sensible en el momento de pico de sinaptogénesis (siete días) y menos sensible al final de la misma (catorce días). Por otro lado, ahondan en el conocimiento de los mecanismos de toxicidad de los anestésicos, de manera que en un primer momento de exposición activan la vía intrínseca, mientras que en periodos de exposición más prolongados se activaría la extrínseca.

En el año 2008, otros autores analizan los efectos de los anestésicos inhalados a nivel de la médula espinal. Utilizan para ello ratas que fueron sometidas a una anestesia general

durante seis horas con isoflurano y óxido nitroso. Aunque se evidenció un aumento de la actividad del sistema proteolítico caspasa 3 en la médula espinal, no se obtuvieron diferencias en los resultados de las pruebas de valoración de actividades motoras comparadas con un grupo control.<sup>72</sup>

Más recientemente, en el 2011, se publicaba un trabajo que compara los patrones de neuroapoptosis y los déficits de memoria de ratones anestesiados con desflurano al 8%, sevoflurano al 3% o isoflurano al 2%.<sup>73</sup> Tras tres horas de exposición, la actividad de la caspasa 3, que se podía medir por técnicas inmunohistoquímicas, era de mayor densidad en los animales anestesiados con desflurano, y fueron éstos los animales que presentaron mayores déficits en memoria comparado con los otros dos grupos. De este y otros estudios similares, se desprende la posibilidad de que la exposición en edades precoces de la vida a determinadas sustancias neurotóxicas pueda conllevar déficits de memoria en la etapa adulta.

A la luz de todos estos hallazgos, y muchos otros que aquí no referimos, en el año 2007, la FDA, a través de un comunicado, lanzó el reto a la comunidad de anestesiólogos para la realización de trabajos que pudieran arrojar resultados en cuanto a riesgo y seguridad de las drogas anestésicas empleadas. En este momento reseñaban que poder recoger conclusiones y redactar recomendaciones para ser utilizadas en los actos anestésicos en seres humanos basándose en estudios animales es complejo por varios factores: en los estudios animales las dosis y los tiempos de exposición a los fármacos son mayores que en la práctica clínica habitual; además, no está del todo claro que los estadios de maduración cerebral animal se puedan extrapolar a los nuestros;<sup>74 75 76 77</sup> por otro lado, en los estudios con animales de experimentación anestesiados no se han controlado factores muy importantes como la infección, alteraciones de la glucemia, hipotensión, estrés u otras complicaciones que podrían de alguna manera contribuir a los cambios neuronales descritos.

Algunos estudios recientes en humanos no encuentran relación entre exposición a anestésicos generales y alteraciones neurológicas en la edad pediátrica.<sup>78 79 80 81 82 83 84 85 86</sup>

Hay dos estudios especialmente significativos, el PANDA y el GAS,<sup>87 88 89</sup> que, por su relevancia, destacamos.

El estudio PANDA (*Pediatric Anesthesia Neuro Development Assessment*) es un estudio observacional realizado con parejas de hermanos sin problemas graves de salud y de edad inferior a tres años. Analiza si una única exposición a la anestesia general en estos niños se asocia, o no, con un aumento del riesgo de alteración global de la función cognitiva. No encuentra diferencias significativas entre los dos grupos.

El estudio GAS (*General Anesthesia Compared to Spinal Anesthesia*) es un trabajo multicéntrico internacional, aleatorio y controlado, que analiza niños de menos de sesenta semanas de vida, algunos de ellos prematuros, y compara los resultados del desarrollo neurológico después de anestesia general versus anestesia espinal más sedación en cirugía correctora de hernia inguinal. Tampoco halla diferencias significativas en ambos grupos.

Sin embargo, algunos otros estudios más pequeños y generalmente retrospectivos sí encuentran alteraciones significativas. La mayoría de ellos se centra en exposiciones largas y/o repetidas a anestésicos generales y concluyen que pueden contribuir a la aparición de problemas cognitivos y de comportamiento, tales como retraso en el desarrollo neurológico, discapacidades de aprendizaje y trastorno de déficit de atención e hiperactividad.<sup>90 91 92 93 94</sup>

<sup>95 96 97 98</sup>

Existen notables indicios de que el grupo de recién nacidos prematuros constituye una población especialmente sensible por encontrarse en fases de extrema actividad de neurodesarrollo. Estudios retrospectivos muestran un riesgo mayor de muerte o trastornos neurocognitivos a los 18-22 meses de edad corregida en este colectivo cuando se les somete a cirugía durante el periodo neonatal.

Hace apenas unos meses, el 14 de diciembre del 2016, la *US Food and Drug Administration* lanzó un nuevo mensaje, esta vez de advertencia, en el que viene a decir lo

siguiente: "El uso repetido o prolongado de anestésicos generales y sedantes durante cirugías o procedimientos en pacientes pediátricos menores de tres años o en mujeres embarazadas durante su tercer trimestre puede afectar el desarrollo de los cerebros de los niños".<sup>99</sup> Los fármacos implicados en este efecto, que se mencionan en la citada alerta y ordenados por orden alfabético, son: Desflurano, Etomidare, Halotano, Isoflurano, Ketamina, Lorazepam, Metohexital, Midazolam, Pentobarbital, Propofol y Sevoflurano. El riesgo se centra fundamentalmente en pacientes de menos de tres años de edad sometidos a cirugías de más de tres horas o a sedaciones y/o anestésias generales repetidas. Añade que los estudios en animales y humanos recientes sugieren que es poco probable que una sola exposición, relativamente corta, a fármacos de anestesia general y de sedación en bebés o niños pequeños tenga efectos negativos sobre el comportamiento o el aprendizaje, si bien todavía se necesitan más investigaciones para caracterizar completamente cómo la exposición anestésica en la primera infancia afecta el desarrollo cerebral.

Los autores consideran "seguro" el uso de estos fármacos en niños mayores de tres años y en procedimientos de menos de tres horas de duración.

Aun así, la FDA requiere que la Ficha Técnica de los fármacos implicados alerte de este riesgo potencial y que padres y tutores de los pacientes sean informados de esta posibilidad.

Concluye su mensaje con una recomendación a los profesionales sanitarios, a los cuales insta a "equilibrar los beneficios de la anestesia adecuada en pacientes pediátricos y mujeres embarazadas contra los riesgos potenciales, especialmente para los procedimientos que puedan durar más de tres horas o si se requieren procedimientos múltiples en pacientes menores de tres años de edad. Los proveedores deben discutir los beneficios, los riesgos y el momento apropiado de la cirugía o los procedimientos que requieren medicamentos anestésicos y sedantes con los padres, cuidadores y mujeres embarazadas".

### 2.3.3. NEUROPROTECCIÓN POR ANESTÉSICOS INHALADOS

#### A. INTRODUCCIÓN: CONCEPTO DE “PRECONDICIONAMIENTO”. PRECONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO MIOCÁRDICO.

Podemos definir el *precondicionamiento* como un fenómeno de protección endógena de algunos tejidos, gracias al cual éstos toleran mejor una agresión de alto impacto después de haber recibido previamente la misma agresión a menor intensidad.

El primer modo de precondicionamiento conocido ha sido la isquemia.

Ya en el año 1986, Murry *et al* publicaron en la revista *Circulation* sus observaciones a este respecto. Estos autores describieron cómo períodos breves de isquemia miocárdica, seguidos de una posterior perfusión, ejercen un efecto de protección del miocito frente al daño isquémico.<sup>100</sup>

Para probar esta hipótesis, realizaron un experimento con perros aleatorizados en dos grupos. El primero de ellos fue “pre-condicionado” con cuatro oclusiones de la arteria coronaria circunfleja, de cinco minutos cada una, separadas por cinco minutos de perfusión y seguidas de una oclusión sostenida de cuarenta minutos. El grupo de control recibió una única oclusión de cuarenta minutos. Después se permitió a los animales cuatro días de perfusión. Al medir el tamaño del infarto histológico, se obtuvo como resultado que el precondicionamiento con isquemia limitó el tamaño del infarto al 25% de lo observado en el grupo control. Los autores proponían que dicho efecto podía haber sido debido a una reducción del agotamiento de ATP y/o a una disminución de la acumulación de catabolitos durante la oclusión sostenida.

A este fenómeno se le llamó *precondicionamiento isquémico* y, posteriormente, se ha comprobado en todas las especies animales en las que se ha investigado (ratas<sup>101</sup>, conejos<sup>102</sup>, cerdos<sup>103</sup>, etc) y en el hombre.

Gracias a estudios en animales sabemos que períodos de pocos minutos de isquemia previa pueden ser suficientes para precondicionar el corazón y, en cambio, dicho efecto citoprotector puede perderse cuando la duración de la isquemia sostenida se prolonga por encima de los noventa minutos a tres horas, según los diferentes modelos animales.<sup>104</sup>

También se ha descrito que puede aparecer una tolerancia al precondicionamiento, con abolición de su efecto beneficioso, cuando se realizan un exceso de isquemias breves y repetidas en el protocolo precondicionante.<sup>105</sup>

El precondicionamiento isquémico presenta una fase de memoria aguda, durante la cual el miocardio permanece resistente al infarto hasta dos horas después del estímulo de precondicionamiento.

Marber *et al*, en conejos<sup>106</sup> y el grupo de Kuzuya, en perros<sup>107</sup>, han descrito una segunda fase de protección frente a la necrosis que reaparece veinticuatro horas después del episodio isquémico precondicionante inicial, es decir, que la protección aparece poco después del episodio isquémico precondicionante, disminuye tras varias horas y retorna un día después en algunas especies (mecanismo bifásico), si bien este efecto bifásico no se observa en otros animales como el cerdo<sup>108</sup> y su mecanismo podría depender de mediadores distintos de los responsables del precondicionamiento «inmediato».

Aunque el verdadero estándar de citoprotección por precondicionamiento es la reducción del tamaño de la necrosis, algunos autores han comunicado también mejoría de la función contráctil<sup>109</sup> y reducción del riesgo de arritmias ventriculares malignas, si bien estos dos aspectos permanecen en discusión.

Explicamos a continuación el mecanismo “global” propuesto inicialmente como base de esta condición, fácil de entender, si bien posteriormente se ha demostrado excesivamente simplista y se ha superado en gran medida. En condiciones normales, concentraciones adecuadas de ATP altas hacen que los canales de potasio dependientes de ATP (K-ATP) en

el miocardio permanezcan cerrados. En situación de hipoxia hay una depleción de ATP, lo cual origina la apertura de los canales K-ATP permitiendo la salida de potasio al exterior; esta salida de K se acompaña (por mecanismos no bien conocidos) de una reducción de la entrada de calcio, lo cual finalmente disminuye la contractilidad miocárdica y, por ello, la demanda de oxígeno, de manera que períodos breves de isquemia hacen al corazón reducir sus requerimientos energéticos y, de esa manera, se hace más resistente a otros eventos isquémicos posteriores.<sup>110</sup>

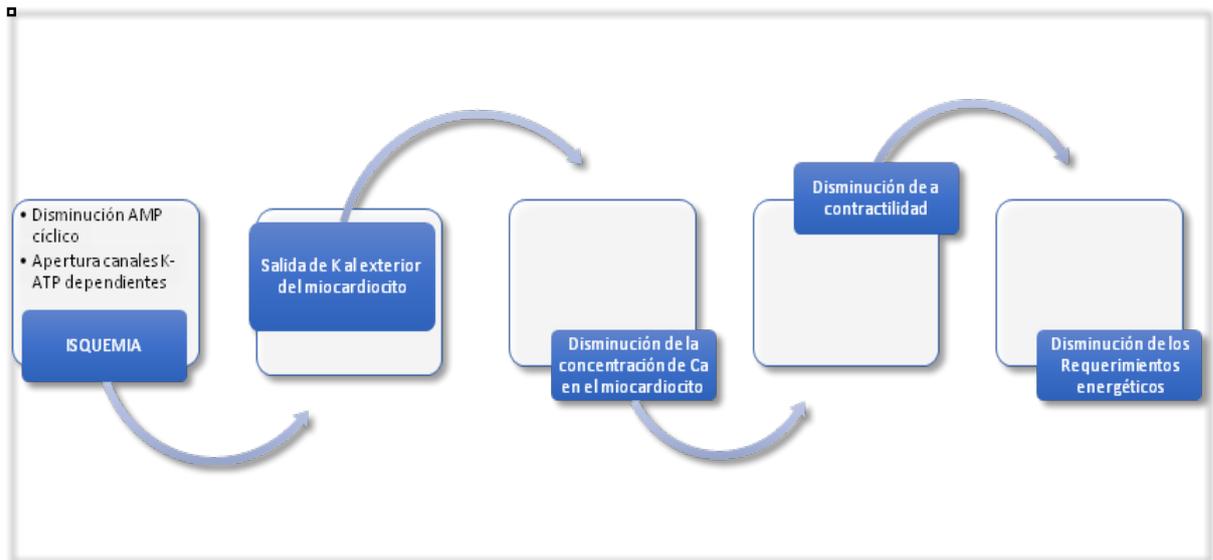
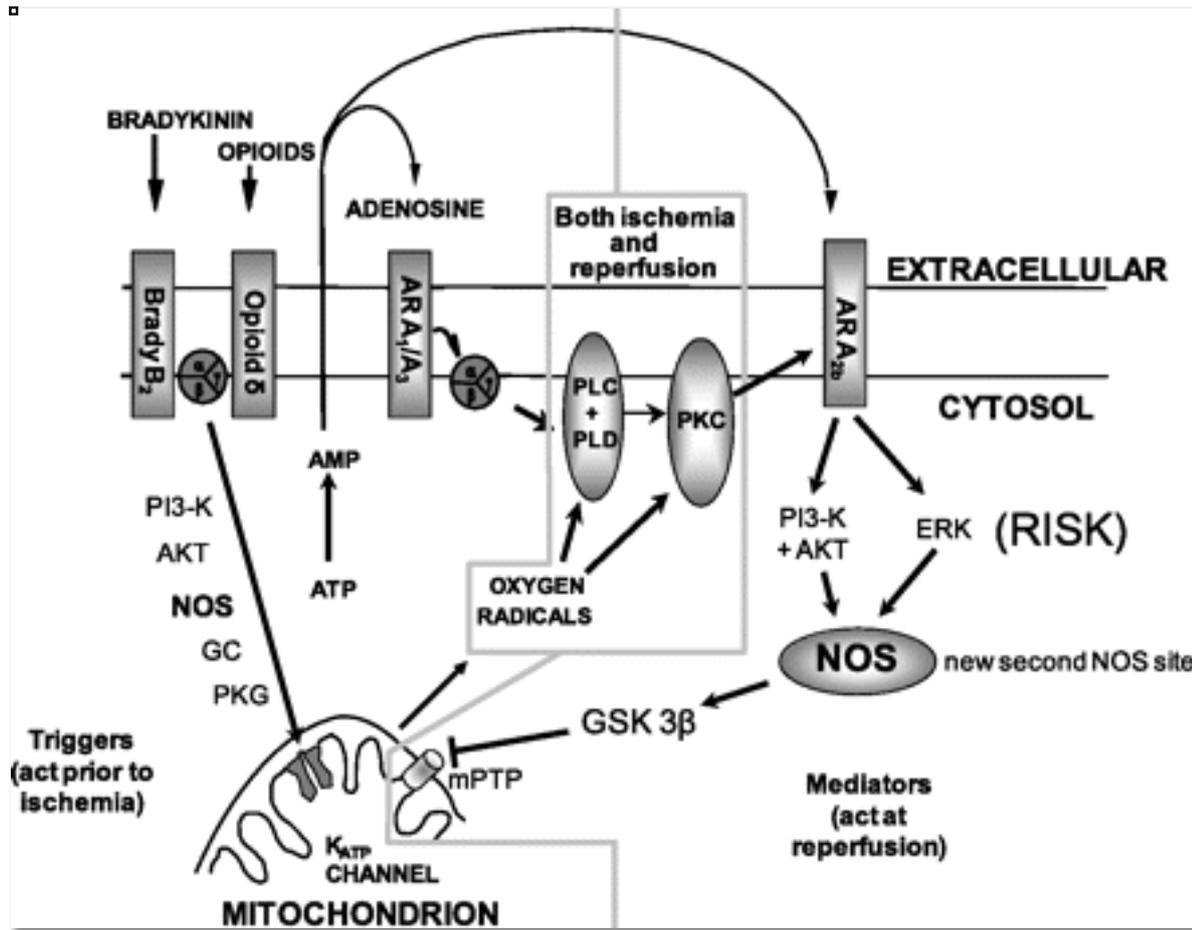


Figura 47. Modelo bioquímico general propuesto inicialmente para el preconditionamiento isquémico miocárdico.

En la apertura de estos canales de potasio probablemente están implicados numerosos mediadores, algunos de los cuales se han identificado (adenosina, MAPKs, radicales libres de oxígeno ...) y otros no, de modo que en la actualidad los mecanismos bioquímicos exactos por los que se produce el fenómeno de preconditionamiento isquémico continúan siendo tan sólo parcialmente conocidos y, por ahora, no se han llegado a establecer protocolos seguros y factibles para el uso clínico de este fenómeno.



NOS: óxido nítrico sintetasa;  
 PKG: proteína quinasa G;  
 GSK-3β: glucógeno sintasa quinasa-3β;  
 AR: receptor de adenosina;  
 PI3-K: fosfatidilinositol 3-quinasa;  
 PLC, fosfolipasa C;  
 PLD, fosfolipasa D;  
 ERK, quinasa regulada por señal extracelular;  
 GC: guanilil ciclaza;  
 PKC, proteína quinasa C;  
 K<sub>ATP</sub>: canal K + mitocondrial dependiente de ATP;  
 mPTP: poro de transición de permeabilidad mitocondrial;  
 RISK: quinasas de supervivencia por lesión por reperfusión.

Figura 48. Mecanismos biomoleculares involucrados en el desarrollo de cardioprotección por preconditionamiento isquémico clásico o temprano.

En el modelo de la figura, propuesto por Cohen y colaboradores en 2010,<sup>111</sup> se trata de esclarecer las vías de señalización del preconditionamiento isquémico. Los autores dividen el proceso en dos fases: una fase desencadenante ("trigger") preisquémica y una fase "de mediadores" que ocurre en la reperfusión temprana. En la fase de activación se establece una situación de protección que persiste durante una a varias horas y la mayoría de los pasos de la secuencia han sido bien documentados. Entre estos pasos están la cascada de la óxido nítrico sintetasa (NOS) -guanilil ciclasa-PKG, que es desencadenada por los receptores de bradicinina, muscarínicos y, presumiblemente, receptores opioides y que finalmente activan los canales de potasio sensibles al ATP mitocondriales (mKATP) y a la PKC.

La vía de los mediadores debe activarse en el primer minuto de reperfusión y es mucho menos conocida. La activación de las "quinasas de supervivencia de lesión por reperfusión" (RISK), que incluyen fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3-quinasa), Akt y ERK, son claramente necesarias para la protección del preconditionamiento durante esta fase en algunos animales como el conejo o la rata, sin embargo, no se ha identificado en cerdos, lo que sugiere que este mecanismo puede no ser común a todas las especies.

## **B. PRECONDICIONAMIENTO FARMACOLÓGICO. PRECONDICIONAMIENTO CARDÍACO POR ANESTÉSICOS INHALADOS.**

Si bien, inicialmente, se conoció el fenómeno de preconditionamiento isquémico, años más tarde aparecerían las primeras investigaciones acerca de la posibilidad de que algunos fármacos pudiesen originar las mismas señales intracelulares que la isquemia, obteniendo una adaptación celular similar a la conseguida con el preconditionamiento isquémico. Surge así el concepto de *precondicionamiento farmacológico*, dentro del cual los anestésicos inhalados han sido los fármacos protagonistas y el órgano más estudiado el corazón.

Uno de los primeros experimentos publicados acerca de los efectos cardioprotectores de los anestésicos inhalados (precondicionamiento farmacológico con agentes volátiles) es el del grupo del Dr. Kersten,<sup>112</sup> realizado en el año 1997 en perros, a los cuales provoca una oclusión con seda de la arteria coronaria descendente anterior izquierda para generar infarto miocárdico. Obtiene como resultado una reducción del tamaño del infarto en los animales que había anestesiado con sevoflurano *versus* el grupo control.

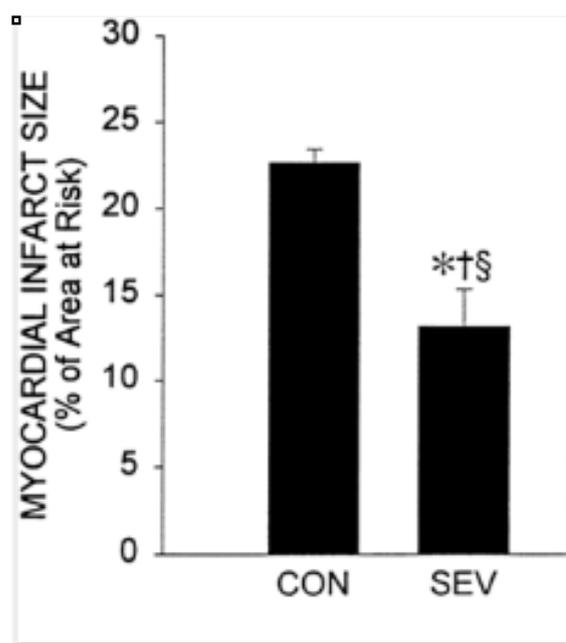


Figura 49. Histograma que representa el tamaño del infarto de miocardio como un porcentaje del área en riesgo en los perros control (CON) y expuestos a sevoflurano (SEV). Significativamente ( $p < 0,05$ )

En el año 2002, el anestesiista belga Stefan G. De Hert<sup>113</sup> publica en *Anesthesiology* uno de los primeros trabajos sobre este tema realizado en humanos. Se trata de un grupo de sólo veinte sujetos sometidos a cirugía coronaria, unos bajo sedación con propofol y otros con sevoflurano. Halla que en el grupo tratado con sevoflurano los niveles de troponina I (marcador de daño miocárdico) permanecen muy por debajo de los niveles que alcanzan en el grupo de los pacientes anestesiados con propofol.

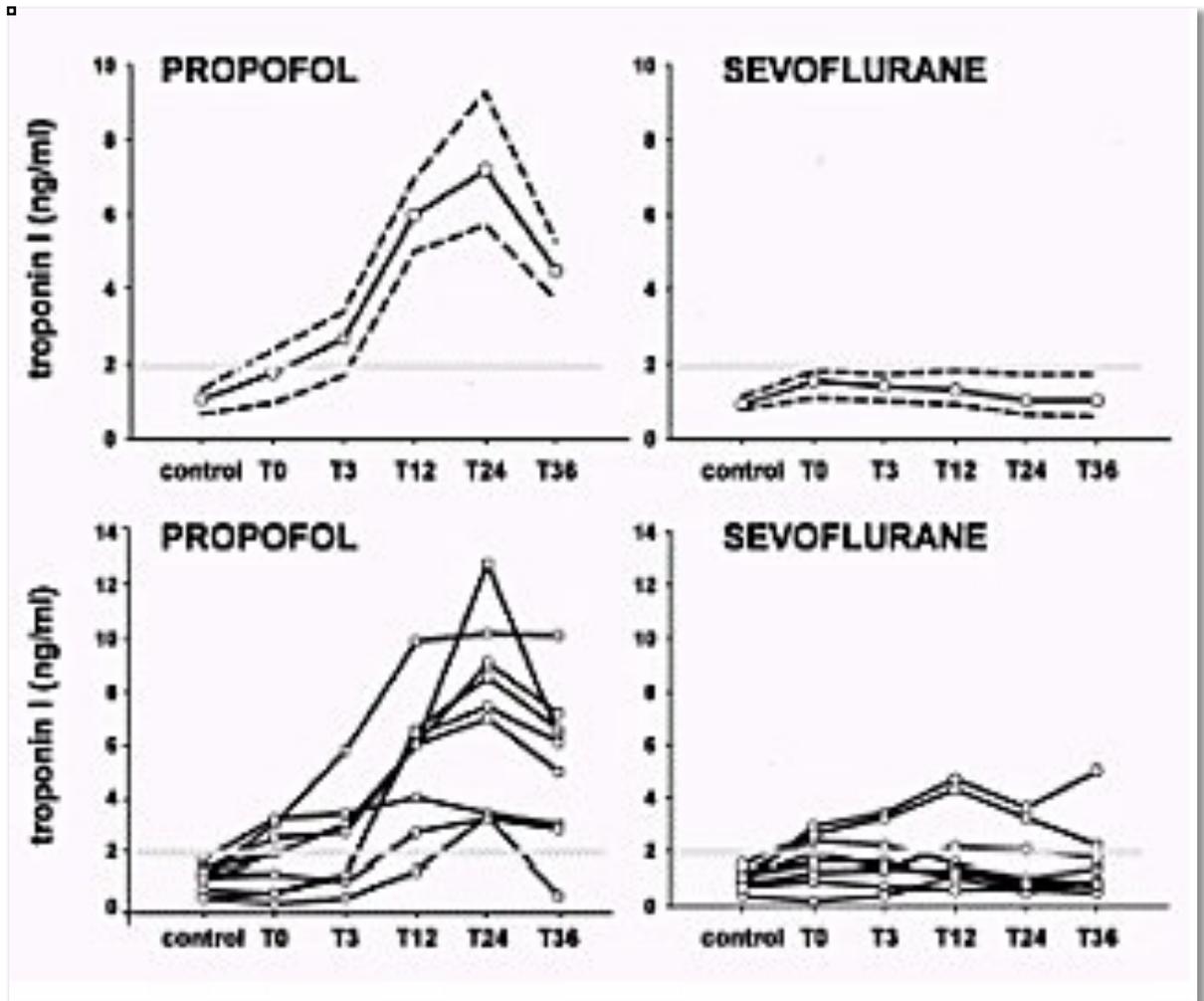


Figura 50. Comportamiento de los niveles de troponina en pacientes sometidos a cirugía cardíaca bajo anestesia con propofol y con sevoflurano durante las siguientes treinta y seis horas.  
 Gráficas superiores: representación de la mediana de los dos grupos.  
 Gráficas inferiores: representación de casos.

A partir de estos estudios iniciales el interés científico suscitado por este asunto ha sido enorme, de manera que encontramos en la literatura muy recientes y numerosos ensayos clínicos en humanos, comparando los resultados en cuanto a miocardioprotección con diferentes anestésicos inhalados.

Prueba de ellos es un interesante metanálisis publicado en 2015 en *BMC Anesthesiology*, firmado por los doctores Li F y Yuan Y,<sup>114</sup> en el que analizan los efectos cardioprotectores del sevoflurano frente al propofol en pacientes sometidos a cirugía cardíaca.

Revisan la bibliografía disponible e incluyen quince ensayos clínicos recientes. Las conclusiones del metanálisis son que “comparado con propofol, la anestesia con sevoflurano mejora el gasto cardíaco (volumen de sangre expulsado por el ventrículo izquierdo en un minuto) y el índice cardíaco (gasto cardíaco por metro cuadrado de superficie corporal) postoperatorios, reduce la concentración de troponina I a las veinticuatro horas de la intervención, el uso de drogas inotrópicas o vasoconstrictoras y la incidencia de fibrilación ventricular.

Resultados muy similares publican hace apenas unos meses (en marzo de 2017) el Dr. Bignami y cols.<sup>115</sup>, al estratificar su muestra de pacientes que van a ser sometidos a cirugía cardíaca en dos grupos: uno anestesiado con agentes inhalados (sevoflurano o desflurano) y el otro con una mezcla de propofol en perfusión y bolos de fentanilo. Encuentran una disminución significativa de la elevación de troponina I postcirugía en el grupo tratado con agentes volátiles, por lo que los autores concluyen que estos fármacos deben poseer propiedades miocardioprotectoras.

También en el corriente 2017, el grupo del Dr Yang<sup>116</sup>, compara la anestesia con propofol y con sevoflurano en pacientes que son sometidos a cirugía para recambio valvular. Encuentran menor elevación de troponina I y CPK en el grupo de sevoflurano, además de una menor respuesta inflamatoria mediada por las citoquinas IL-6 e IL-10 en las cuarenta y ocho horas posteriores a la cirugía.

Pero ¿qué sabemos acerca de los mecanismos por los que los anestésicos inhalados inducen esa resistencia del miocardio a la hipoxia?

Estudiar estos efectos protectores frente a la isquemia ha resultado enormemente complejo, puesto que los anestésicos halogenados ejercen diferentes efectos sobre la función cardiovascular: reducen la presión de perfusión arterial y coronaria, vasodilatan las arterias coronarias, deprimen la contractilidad del miocardio, alteran la función electrofisiológica del miocito y modulan la actividad del sistema nervioso autónomo.

Años atrás se había atribuido a los agentes halogenados un efecto deletéreo sobre el miocardio denominado “robo coronario”, que no es más que un desbalance entre el aporte y la demanda miocárdica de oxígeno al miocardio. Progresivamente, esta idea ha ido siendo denostada a medida que han visto la luz estudios que sugieren lo contrario. En la actualidad pensamos que parte de los efectos miocardioprotectores de estos fármacos pueden ser debidos a sus efectos beneficiosos sobre la relación entre la oferta de oxígeno y la demanda, el discreto aumento del flujo coronario y, por tanto, la preservación de las funciones celulares oxígeno-dependientes.

No obstante, parece difícil justificar por estas acciones sobre el metabolismo miocárdico y la perfusión coronaria todos los efectos cardioprotectores de los anestésicos inhalados. De hecho, se han implicado en este papel varias vías de activación de señales intracelulares en las que participan principalmente los canales de K-ATP dependientes y los RLO, y que, por tanto, son muy similares a las descritas en el fenómeno de preconditionamiento isquémico, si bien estas vías siguen siendo en la actualidad solo parcialmente conocidas.<sup>117</sup>

Al igual que el preconditionamiento isquémico, el preconditionamiento farmacológico con anestésicos inhalados también consta de una fase de protección precoz y otra tardía, que puede variar dependiendo del agente y del animal expuesto.

Los estudios disponibles sugieren que el mecanismo por el cual se activan los canales de K ATP mediados pasa por la mediación de proteínas de la familia de la proteína G, que a su vez activarán a la proteinkinasa C (PKC), y de receptores de adenosina (A1) de tipo 1 acoplados a canales KATP.

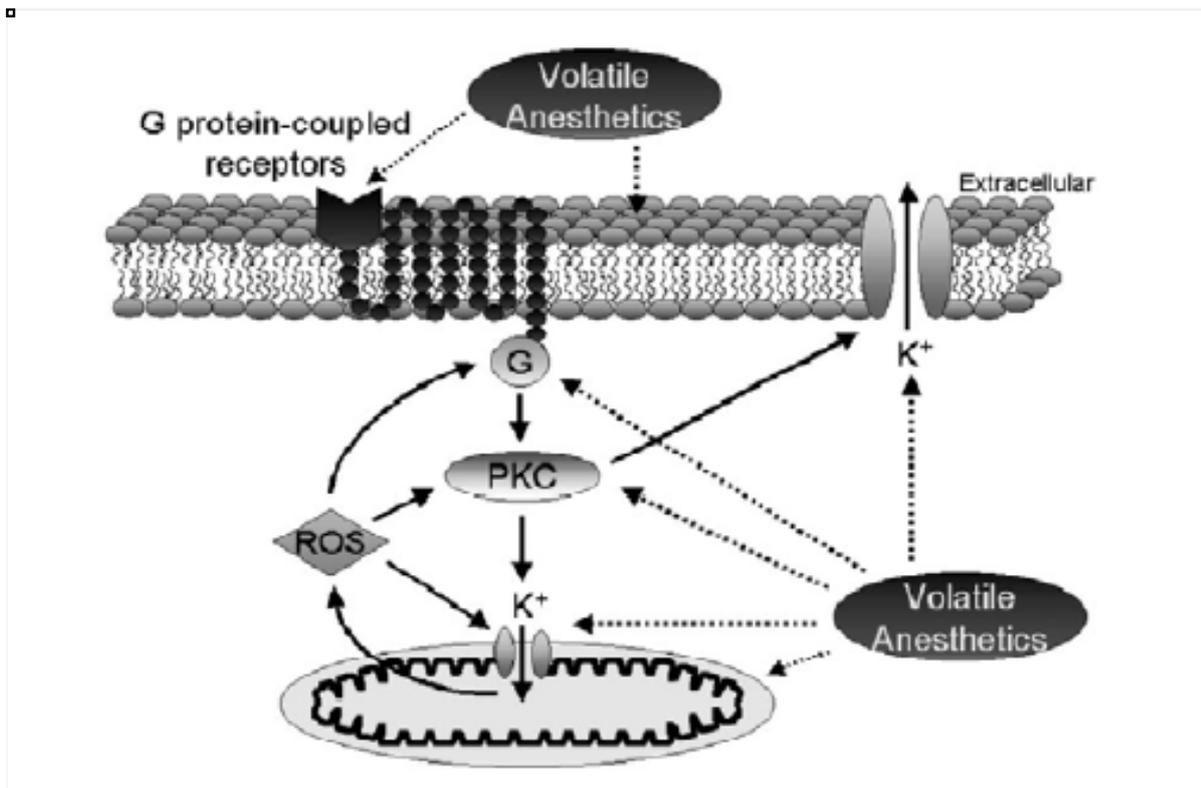


Figura 51. Modelo bioquímico propuesto para el preconditionamiento isquémico miocárdico mediado por canales de potasio.

Como apuntábamos antes hablando del preconditionamiento isquémico, inicialmente se pensó que la apertura de los canales de K-ATP inducía una disminución de la acumulación de calcio en la célula, lo cual disminuiría la duración del potencial de acción y, por tanto, de la contracción del miocito, lo que, a su vez, reduciría su demanda energética, de manera que quedaría protegido frente a la hipoxia. Pero, posteriormente, este mecanismo no se ha logrado confirmar y, en la actualidad, cobra mayor fuerza la idea de que la reducción del acúmulo de calcio en la mitocondria y en el citoplasma no actúa tanto a través de los potenciales de acción sino mediante un efecto de preservación de la función bioenergética de la mitocondria y éste es el factor crucial para la protección ante la hipoxia.

Por otro lado, la apertura de los canales de potasio dependientes de ATP va a provocar (por sí mismo o quizás a través de modificación de la homeostasis del calcio) en el músculo

liso de los vasos coronarios una vasodilatación, lo que va a mejorar el aporte de oxígeno y, en cierto modo, protege durante la isquemia, cuando la producción de ATP se ve reducida.<sup>118</sup> Además, los agentes inhalados inducen un incremento de la circulación colateral, mediado por los canales de potasio calcio dependientes.<sup>119</sup>

Otros efectos beneficiosos de los halogenados en los procesos de isquemia y reperfusión miocárdicos son la disminución en la formación de radicales libres de oxígeno, RLO (en inglés, ROS = *Reactive Oxygen Species*), los cuales son producidos en grandes cantidades en la fase de reperfusión, provocando alteraciones en la homeostasis intracelular, depresión miocárdica y daño en la membrana celular entre otros. Se ha demostrado que los halogenados disminuyen la formación de RLO, si bien los mecanismos exactos por los que esto ocurre tampoco son del todo conocidos.<sup>120</sup>

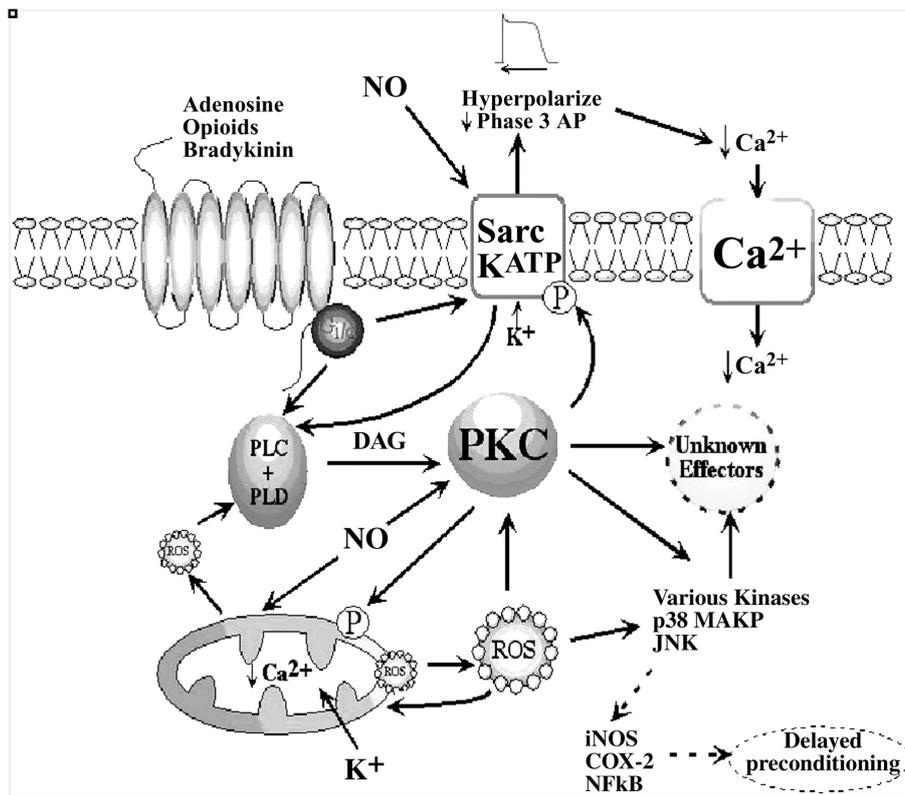


Figura 52. Modelo bioquímico propuesto para el preconditionamiento isquémico miocárdico mediado por inhibición de la formación de RLO (ROS).

Como apuntábamos antes, el mecanismo final de miocardioprotección está aún por desentrañar, aunque la hipótesis más aceptada es que la apertura de los canales de K-ATP dependientes de la mitocondria produce una cierta alteración de la homeostasis, que promueve la tolerancia a la isquemia mediante la reducción del acúmulo excesivo de calcio, el bloqueo de la activación de vías inductoras de apoptosis o necrosis y mediante atenuación del estrés oxidativo.

### **C. PROTECCIÓN POR AGENTES INHALADOS EN OTROS ÓRGANOS**

Además de los numerosos estudios en miocardio, se han demostrado propiedades citoprotectoras del sevoflurano en otros órganos.

#### ***C.1. EN EL TÚBULO PROXIMAL RENAL***

Se han descrito efectos antiinflamatorios y antinecróticos del sevoflurano en células del túbulo proximal renal *in vitro*<sup>121</sup> tras ser sometidas a una lesión de isquemia-reperfusión. La exposición a sevoflurano resultó en una activación de las proteinkininas ERK y de los AK-t, así como una sobrerregulación de HSP-70 (*Heat Shock Proteins*). Estas tres proteínas están implicadas en los procesos de supervivencia celular.

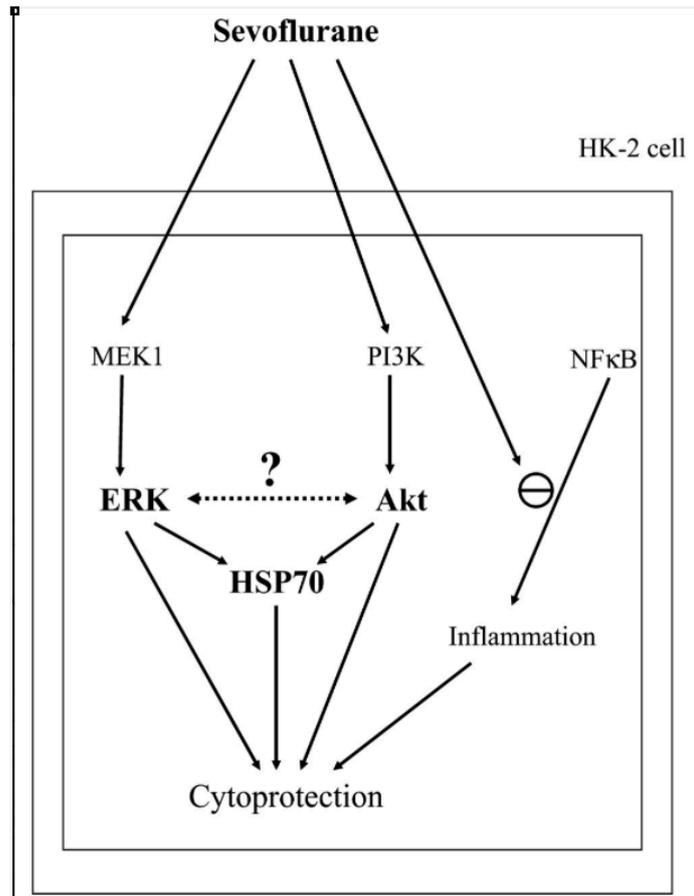


Figura 53. Mecanismo teórico citoprotector del sevoflurano en el túbulo proximal renal.

## C.2. EN EL HÍGADO

Los fenómenos de citoprotección secundarios a la exposición a anestésicos halogenados también se han estudiado en órganos como el hígado. A nivel de esta víscera, algunos trabajos <sup>122</sup> midieron los niveles de AST (aspartato amino transferasa) en ratas sometidas a daño hepático, estando dividida la muestra en tres grupos: uno control, otro con preconditionamiento isquémico (IPC) y el último con preconditionamiento anestésico (APC). En el grupo tercero los niveles de AST, que es un indicador de daño hepático, se elevaron menos que en los otros dos grupos.

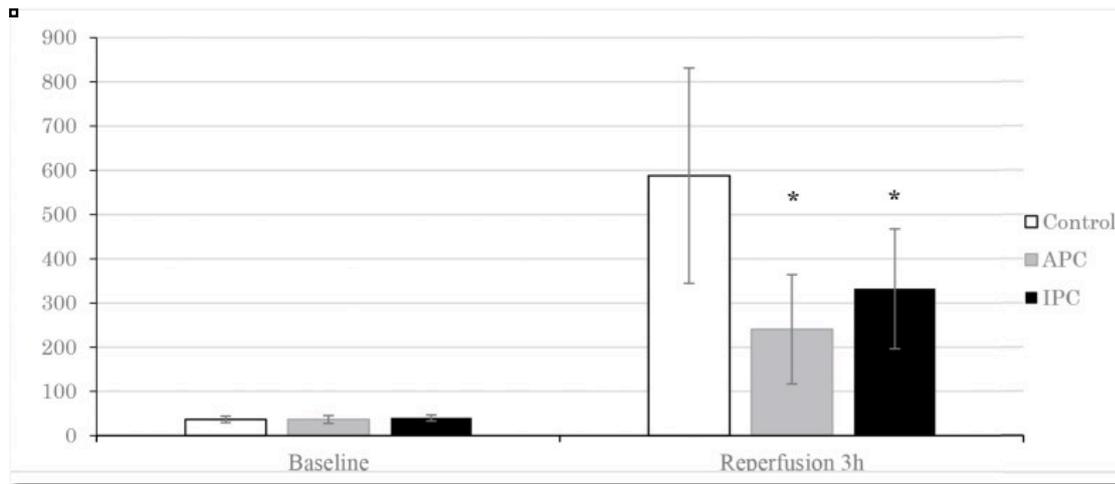


Figura 54. Niveles de AST en ratas en tres grupos: control, con preconditionamiento anestésico (APC) y con preconditionamiento isquémico (IPC).

### C.3. EN EL PULMÓN

A nivel del pulmón también se ha estudiado el posible efecto citoprotector de los halogenados.<sup>123</sup> Es sabido que en el daño pulmonar agudo los macrófagos alveolares desempeñan un papel fundamental. El trabajo de Steurer y colaboradores simuló una agresión pulmonar activando *in vitro* los macrófagos alveolares con una lipopolisacaridasa (LPS). Después de esto, una muestra se expuso a aire ambiente y otra a sevoflurano, determinándose en ambos grupos los niveles alcanzados de fosforilación (p) de los ERK (proteinKinasas Extracelulares Reguladoras), proteínas antiinflamatorias y antiapoptóticas que parecen estar implicadas en la protección celular inducida por sevoflurano. Se constató un incremento significativo de pERK en el grupo LPS Sevo frente al grupo LPS.

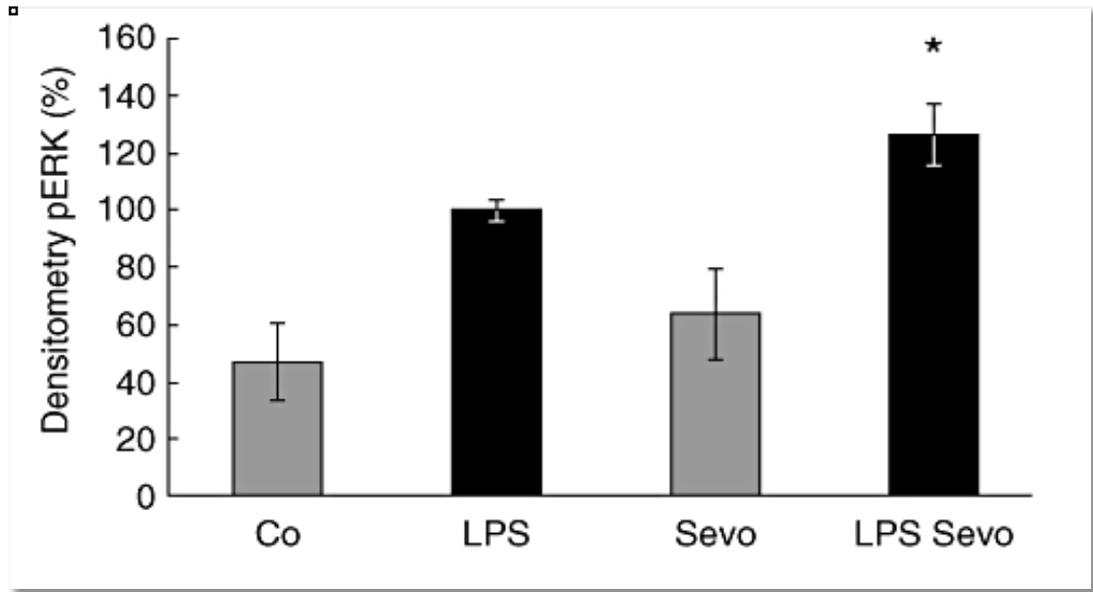


Figura 55. Niveles de pERK en grupo Co (control), LPS (agresión con lipopolisacardiasa + aire), Sevo (sevoflurano) y LPS+Sevo (agresión con lipopolisacardiasa + sevoflurano).

#### D. NEUROPROTECCIÓN POR AGENTES INHALADOS

Desde hace décadas se postula que los anestésicos volátiles pueden tener un efecto neuroprotector durante períodos de isquemia cerebral. Esto se evidenció por primera vez en el año 1963, en el que tres doctores publican en la revista *Surgery* que su grupo de 66 pacientes, sometidos a oclusión carotídea bajo anestesia con el agente inhalado ciclopropano, tenían mayor tolerancia a la isquemia.<sup>124</sup>

Estudios posteriores confirman reiteradamente este efecto, si bien la mayoría de la evidencia procede de experimentación en animales adultos.<sup>125 126 127</sup>

Los mecanismos por los que los anestésicos inhalados proporcionan dicha protección parecen ser muy similares a los del preconditionamiento isquémico.

Aunque los anestésicos inhalados han sido los más relacionados con neuroprotección, también se ha descrito este efecto en anestésicos intravenosos, como la ketamina.<sup>128</sup>

Se ha comunicado que el sevoflurano tiene un papel neuroprotector después de la isquemia cerebral grave en ratas <sup>129</sup> y que puede aminorar el daño en el aprendizaje espacial y la memoria en estos animales después de la isquemia. <sup>130</sup>

El sevoflurano no sólo aumenta el flujo sanguíneo cerebral <sup>131</sup> sino que también preserva la autorregulación cerebral. <sup>132</sup>

No obstante, tampoco los mecanismos de los efectos neuroprotectores del sevoflurano han sido totalmente dilucidados.

Algunos estudios muestran que el sevoflurano inhibe parcialmente la apoptosis a través de la regulación negativa de genes proapoptóticos (como Tnf y Tp53) y positiva de genes antiapoptóticos (tales como Bcl-2 y Prok2). <sup>133</sup> Otros sugieren que el preacondicionamiento del sevoflurano induce neuroprotección liberando ROS e induciendo la consiguiente regulación positiva de enzimas antioxidantes como GSH-px. <sup>134</sup>

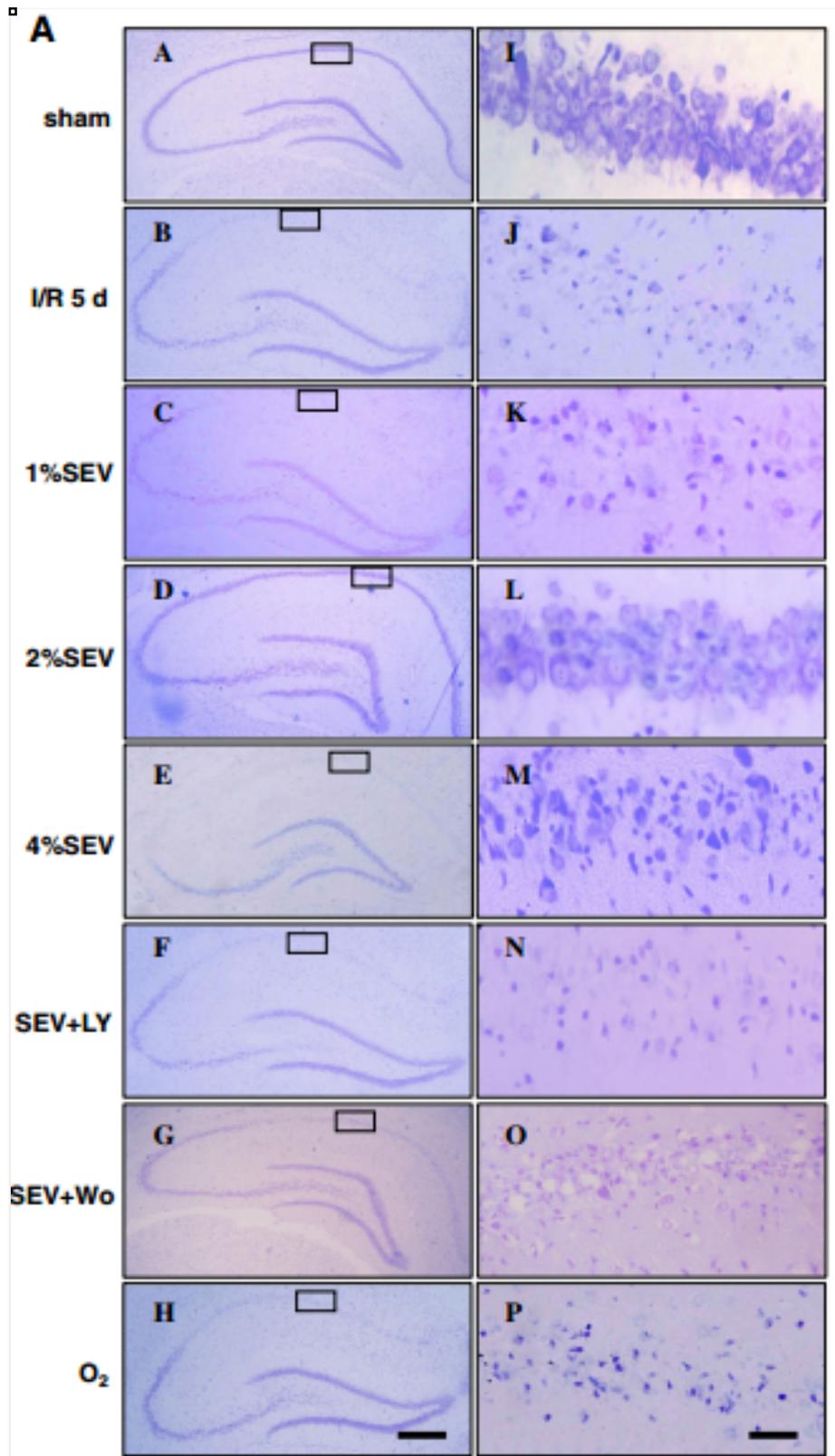
Por otro lado, se ha informado que el sevoflurano puede abrir los canales de potasio mitocondriales sensibles a ATP y fosforilar la p38 MAPK para inducir neuroprotección tardía.

<sup>135</sup>

Todas estas vías no han podido ser convenientemente descritas.

En un experimento recientemente publicado (*Mol Neurobiol*, 2016), <sup>136</sup> se sometió a una muestra de ratas a isquemia cerebral durante quince minutos mediante clampaje de la carótida y, posteriormente, se permitieron cinco días de reperfusión. En la imagen se observan los cortes cerebrales del grupo control (*sham*), del grupo sometido a isquemia-reperfusión (I/R 5d), sin ninguna otra intervención, y del resto de grupos sometidos a isquemia más diferentes intervenciones: administración de sevoflurano a diferentes concentraciones dos horas antes de la isquemia, sevoflurano más el inhibidor selectivo de la P13K LY294002, sevoflurano más otro inhibidor de P13K denominado wortmannin y finalmente oxígeno. Estos dos inhibidores se incluyeron con el propósito de investigar el papel del sevoflurano sobre la vía de activación

de la PI3K / Akt en la isquemia cerebral transitoria.



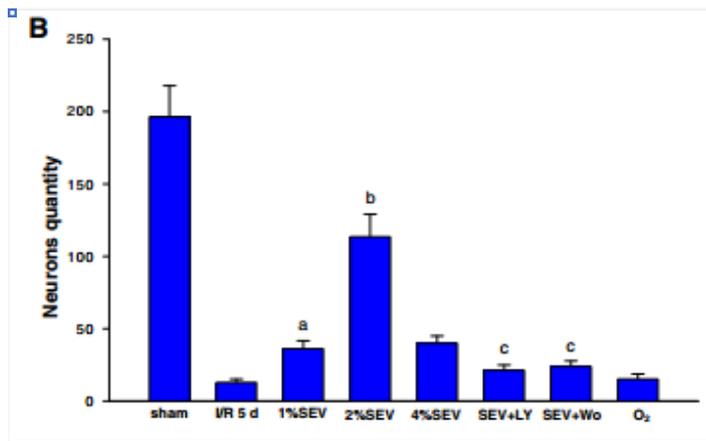


Figura 56. Cinco días de reperfusión después de quince minutos de isquemia cerebral global indujo muerte celular grave en comparación con el grupo control, mientras que el pretratamiento con 2% de sevoflurano durante dos horas antes de la isquemia disminuyó marcadamente la degeneración neuronal. El pretratamiento con 1 o 4% de sevoflurano durante dos horas no mostró una mejora sobre el

pretratamiento con 2% de sevoflurano. La adición de ly294002 o wortmannin agravó la muerte celular en comparación con sevoflurano solo. El O<sub>2</sub> no mostró efectos neuroprotectores evidentes contra la pérdida neuronal inducida por i/r en el hipocampo de las ratas.

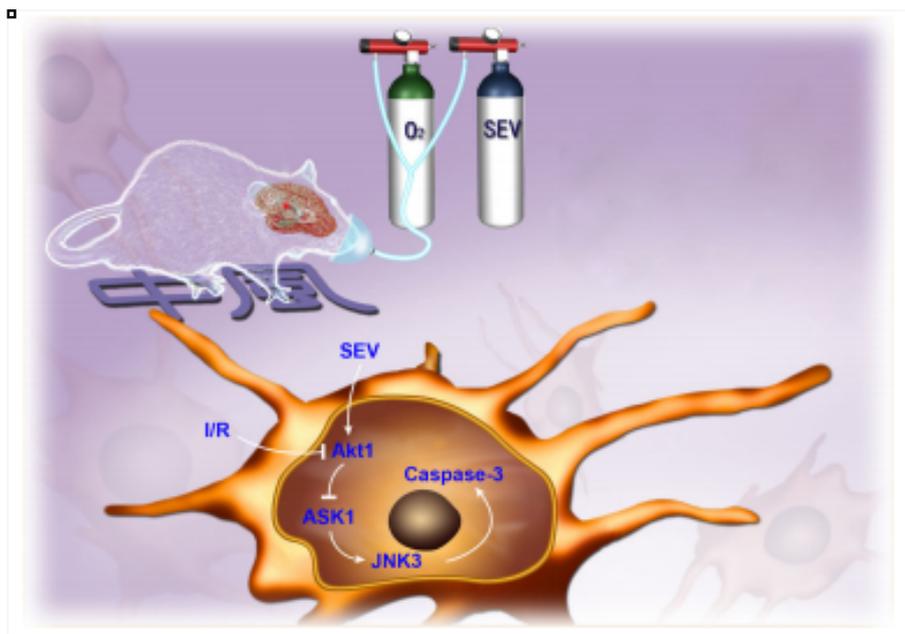


Figura 57. Propuesta por los autores del estudio. La isquemia-reperfusión puede suprimir la activación de la akt1 y por tanto también la de la caspasa 3 (apoptosis neuronal vía ASK1-JNK3). El pretratamiento con sevoflurano podría disminuir la lesión cerebral asociada a la isquemia - reperfusión inhibiendo JNK3 y caspasa 3 a través de la vía de señalización Akt1.



## E. NEUROPROTECCIÓN Y NEUROTOXICIDAD: ¿ES POSIBLE UN MODELO BIOQUÍMICO COMPATIBLE CON AMBOS EFECTOS?

Nuevos artículos publicados en los últimos años hipotetizan sobre los mecanismos por los que los anestésicos inhalados pueden inducir tanto neurotoxicidad como neuroapoptosis y, en general, atribuyen la inclinación de la balanza hacia uno u otro lado a la dosis y el tiempo de exposición al fármaco, de manera que dosis bajas y períodos cortos de exposición se relacionarían con efectos neuroprotectores, mientras que exposiciones a dosis altas o prolongadas estarían más vinculadas a efectos de neurotoxicidad.

Sirva como ejemplo la hipótesis denominada de “homeostasis bioenergética” de Jun Zhang publicada en la revista *Medical Hypotheses* en 2011.<sup>138</sup>

### NOTAS A LA FIGURA 57 DE LA PÁGINA SIGUIENTE

ROS: reactive oxygen species;  
ETC: electron transport chains;  
IP3 receptors: inositol 1,4,5-trisphosphate receptors;  
ATP: adenosine triphosphate;  
mitoK<sub>ATP</sub>: mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels;  
Akt: protein kinase B;  
HIF-1 $\alpha$ : hypoxia inducible factor 1 $\alpha$ ;  
ER/SR: sarco/endoplasmic reticulum;  
HK: hexokinase;  
TCA cycle: tricarboxylic acid cycle;  
BACE1:  $\beta$ -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1;  
A $\beta$ : amyloid- $\beta$  peptide  
↑: incremento;  
↓: disminución;  
(-): feedback negativo durante la isquemia/reperfusión;  
(+): feedback positivo durante la exposición prolongada y a altas concentraciones a anestésicos volátiles en situación de normoxemia.

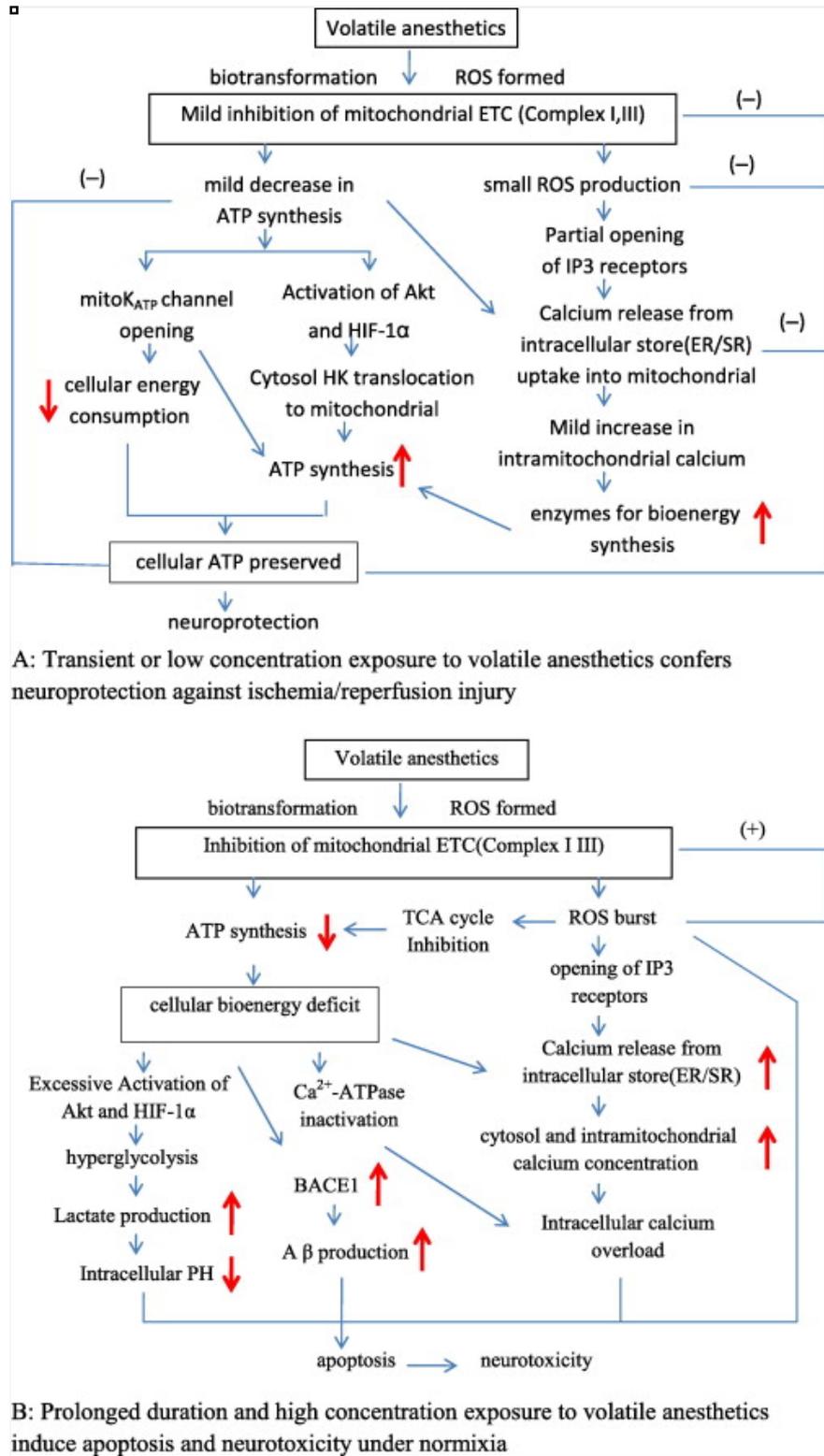


Figura 59. Vías por las que los anestésicos inhalados inducirían neuroprotección (A) y neurotoxicidad (B) según la hipótesis de homeostasis bioenergética de Jun Zhang. (Ver nota en página siguiente.)

Otro grupo de investigadores, liderado por los doctores Wei e Inan, publica en *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* en 2013 <sup>139</sup> su propia teoría sobre los mecanismos de acción neuroprotectora y neurotóxica de los anestésicos inhalados, centrada en la mayor o menor concentración de calcio en el citosol de la célula nerviosa.

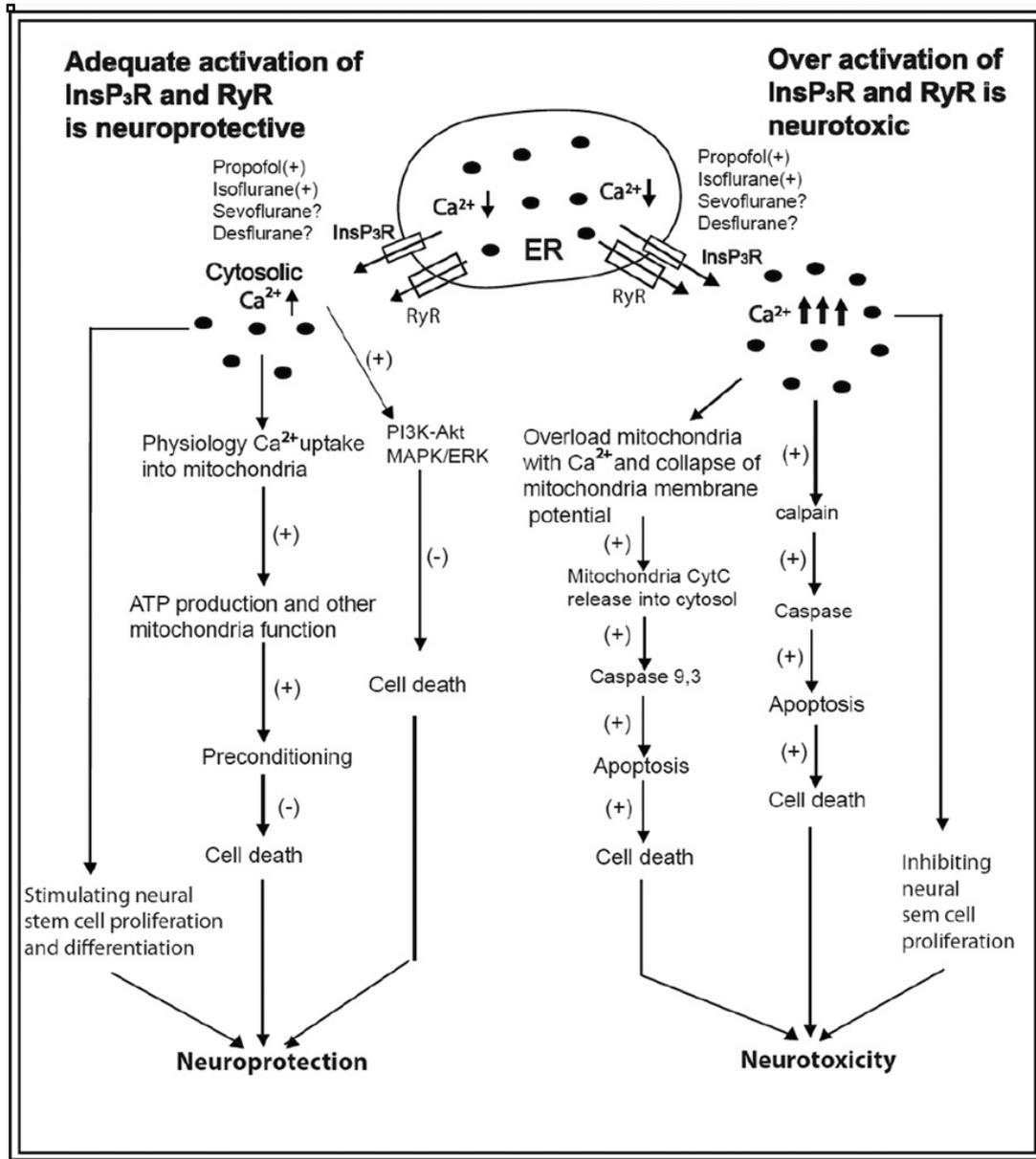


Figura 60. Hipotéticas vías implicadas en los efectos neurotóxicos y neuroprotectores de los agentes anestésicos generales. Wei h, inan s. Dual effects of neuroprotection and neurotoxicity by general anesthetics: role of intracellular calcium homeostasis.

El lado izquierdo de la figura representa la neuroprotección y el lado derecho representa la neurotoxicidad. A corto plazo y baja concentración de anestésicos (lado izquierdo) para preconditionamiento, se induce la liberación moderada de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) del retículo endoplásmico (ER) a través de  $\text{InsP}_3\text{Rs}$ . La transferencia adecuada de  $\text{Ca}^{2+}$  a las mitocondrias estimula la producción de ATP y otras funciones mitocondriales para proporcionar neuroprotección. De forma similar, un modesto aumento de la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólica activa las vías pro supervivencia, tales como fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) y las cascadas de señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) [cinasas reguladoras de señal extracelulares (ERK), c-Jun N-terminal Proteína quinasas (JNK) y p38, así como la proteína quinasa B (Akt)]. La activación de la señalización de supervivencia celular disminuye la apoptosis y la muerte celular.

Por el contrario, la exposición prolongada a concentraciones anestésicas altas (lado derecho), aumenta el  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico a niveles tóxicos debido a la liberación excesiva de  $\text{Ca}^{2+}$  de ER. Esto da lugar a una transferencia excesiva de  $\text{Ca}^{2+}$  del ER a las mitocondrias y al aumento de la actividad de los poros de transición de la permeabilidad mitocondrial (mPTP), dando como resultado el hinchamiento y la rotura mitocondrial y la liberación de moléculas proapoptóticas. Las concentraciones de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólicas anormalmente elevadas también pueden activar la calpaína y luego las caspasas e inducir la muerte celular por apoptosis, dando como resultado una neurodegeneración.

## 3. MAGNITUD BIOQUÍMICA DE DAÑO CEREBRAL

### 3.1. PROTEÍNA S-100B

#### 3.1.1. ESTRUCTURA QUÍMICA

Las proteínas S100 son un grupo de proteínas ligadoras de calcio, de bajo peso molecular, presentes solo en animales vertebrados, en los que cumplen numerosas funciones tanto a nivel intra como extracelular.

Fueron descubiertas en el año 1965 por el Dr. Blake W. Moore, bioquímico del Departamento de Psiquiatría de la Escuela de Medicina de la Universidad de Washington, en cerebro de ovejas.<sup>140</sup> Al descubrir que eran solubles al 100% en sulfato de amonio a pH neutro, las denominó proteínas S 100. Las dos primeras identificadas fueron la proteína S 100  $\alpha$  y la proteína S 100  $\beta$ , denominadas en la actualidad S100 A y S100B, pero consiguió identificar hasta veinte más de la misma familia y en la actualidad se conocen veinticinco. En general, su nomenclatura es compleja y se ha ido modificando a lo largo del tiempo. Todas ellas comparten el 40% de la secuencia de aminoácidos. Algunas son monómeros y otras dímeros. Por ejemplo, la proteína S100B es un dímero, por eso en ocasiones se la denomina también proteína S100BB. Algunas de estas proteínas se utilizan habitualmente en la práctica médica, como la calprotectina fecal (heterodímero S100A8/S100A9),

La diversidad dentro de esta familia de proteínas refleja la gran variedad de procesos en los que están involucradas. A nivel intracelular: regulación de la proliferación y diferenciación celular, apoptosis, homeostasis del calcio, metabolismo energético, respuesta inflamatoria, migración/invasión celular y regulación de factores de transcripción, entre otras. A nivel extracelular realizan sus funciones mediante la unión a receptores de la superficie

celular como el *receptor for advanced glycation end products* (RAGE) y *Toll-like receptors* (TLRS), siendo capaces de iniciar y perpetuar una respuesta inflamatoria no infecciosa.<sup>141</sup>

La proteína S100B se encuentra fundamental pero no exclusivamente en astrocitos, oligodendrocitos, endotelios y otras células del sistema nervioso. Se localiza tanto a nivel del citoplasma como integrada en la membrana de la célula. También se produce proteína S100B en otro tipo células no neurales, como los adipocitos, condrocitos y melanocitos. Sin embargo, su fuerte asociación con la célula glial ha dado lugar a la investigación de esta proteína como marcador indirecto de actividad neuronal y, así, en la actualidad, existe un enorme interés científico sobre el papel de la proteína S100B como marcador en diferentes afecciones del sistema nervioso, como la encefalopatía hipóxico-isquémica, el traumatismo craneal, enfermedades neurológicas (Alzheimer, trastornos desmielinizantes, epilepsia, accidentes cerebrovasculares) y psiquiátricas (esquizofrenia, trastorno bipolar), y también como marcador tumoral en tumores de estirpe neural, melanoma y cáncer de mama.

La proteína de unión al calcio S-100 B (S-100B), cuyo gen se encuentra en 21q22.3 (tamaño 6.505 pb), está compuesta de 92 aminoácidos y tiene un peso molecular de 10,7 kDa.<sup>104 105</sup> Es termolábil. Tiene una vida media corta, de aproximadamente una hora y se elimina casi en su totalidad (98%) a través del riñón.

Es una proteína dimérica, constando la estructura secundaria de dos cadenas con dos hélices alpha y una lámina beta que, en su estructura terciaria, se pliegan formando un dominio tipo mano EF. La *mano EF* es un dominio estructural, es decir, una combinación de estructuras con una disposición característica que se repite en diferentes tipos de proteínas, de tipo hélice-bucle-hélice que se encuentra en una gran familia de proteínas de unión a calcio. Cada monómero consta de dos hélices alfa, situadas de manera más o menos perpendicular la una a la otra y unidas por una región corta (por lo general alrededor de doce aminoácidos) y posee dos zonas de unión al calcio.

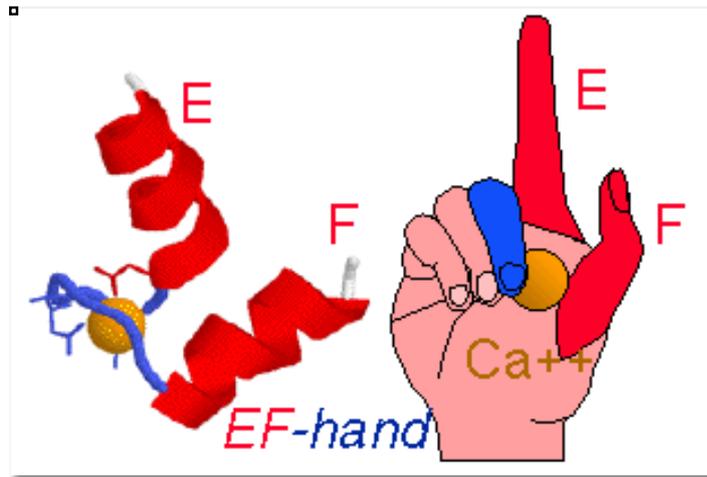


Figura 61 Representación del dominio tipo mano E-F de la proteína S100B

Cuando la proteína S100B fija el calcio sufre un cambio conformacional, girando 90° sus hélices y adquiriendo forma de herradura, mediante la cual se une a los receptores de sus dianas para llevar a cabo una acción.

La proteína S100B se encuentra, como hemos referido ya, tanto dentro de su célula productora (la célula glial y sobre todo el astrocito), como fuera, en el espacio extracelular, al cual llega mediante un mecanismo no bien conocido.

Dentro de la célula, la proteína S100B se ha descrito implicada en la regulación de la fosforilación de proteínas, en actividades enzimáticas, en la dinámica de los componentes del citoesqueleto y de los factores de transcripción, en la homeostasis del calcio y en la proliferación y diferenciación celular. A nivel extracelular, la proteína S100B estimula la supervivencia y/o la diferenciación neuronal, la proliferación de los astrocitos; causa muerte neuronal vía apoptosis y puede tanto estimular como inhibir la actividad inflamatoria de las células.

Para ello, la proteína S100B interacciona con un gran número de proteínas diana. Existen receptores en las sinapsis, tanto en las membranas como en las propias vesículas, y

también se han descrito en las membranas de organelas del citoplasma, incluso en la membrana del núcleo de la neurona. <sup>142</sup>

### **3.1.2. NIVELES PLASMÁTICOS DE PROTEÍNA S100B EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA**

Los niveles normales de esta proteína en plasma han sido intensamente estudiados en los últimos años en adultos y, más recientemente, en niños. Sabemos que en adultos su concentración permanece bastante estable; en cambio, en los niños, no es posible establecer unos valores de referencia estándar, sino que, como suele ocurrir en este intenso período de la vida, los valores de normalidad se modifican en el tiempo.

En el año 2003, el grupo de Gazzolo y colaboradores es el primero en elaborar unas gráficas de valores de normalidad de la proteína S100B en la población pediátrica desde los 0 hasta los 15 años de edad. Así, describen una gráfica descendente a partir de la semana 20 de vida, inversamente relacionada con la edad y con la velocidad de crecimiento. En el nacimiento, y más aún en los prematuros, se encuentran las concentraciones más altas: media en menores de 1 año de 0,350 µg/L y en mayores de 1 año 0,130 µg/L. A los 7 años de edad encuentran un pico de concentración (0,8 µg/L) y otro a los 14 años (1.1 µg/L). En relación al sexo, este grupo no encuentra diferencias.

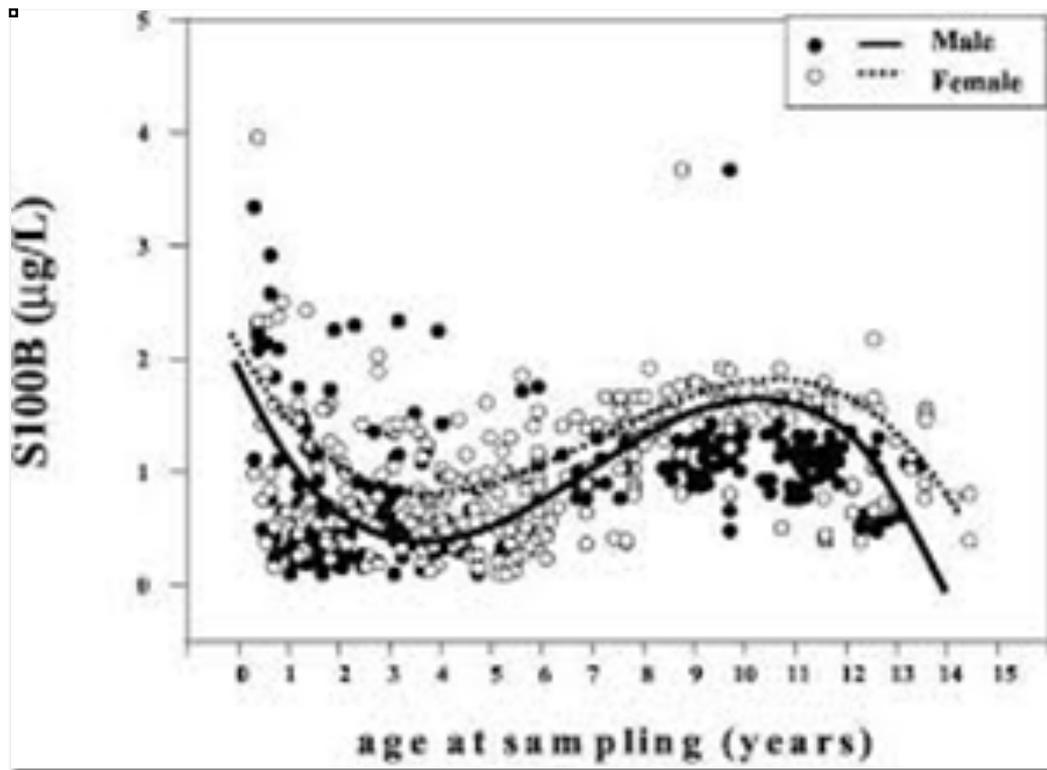


Figura 62. Concentraciones plasmáticas de la proteína S100B en niños según gazzolo y cols.

Recientemente, en España, el grupo del Dr. Arroyo Hernández,<sup>143</sup> en Asturias, ha publicado los resultados de su estudio sobre una población de 200 niños y niñas, en el que concluye que la concentración de S100 $\beta$  permanece estable a partir de los dos años de edad, siendo posible establecer unos valores de referencia para niños mayores de esta edad. En los dos primeros años de vida, en cambio, la concentración de S100 $\beta$  sérica es más alta cuanto menor es la edad del niño. Como en otros estudios, no se observan diferencias en el valor de S100B sérica entre ambos sexos.

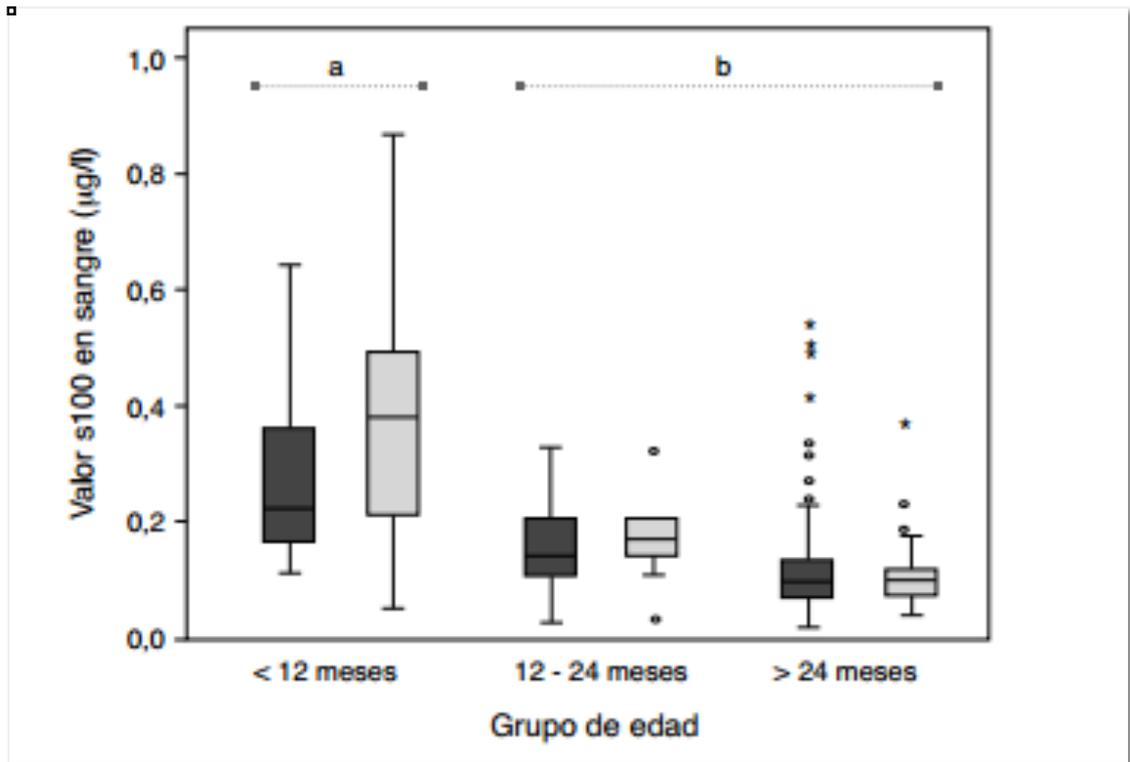


Figura 63. Concentraciones de la proteína S100 sérica en función de la edad, según Hernández y cols. Los resultados se muestran también desglosados por sexos (gris oscuro para varones y gris claro para mujeres). Los grupos de edad entre los que se observan diferencias significativas vienen representados por las letras «a» (< 12 meses) y «b» (12-24 meses y > 24 meses).

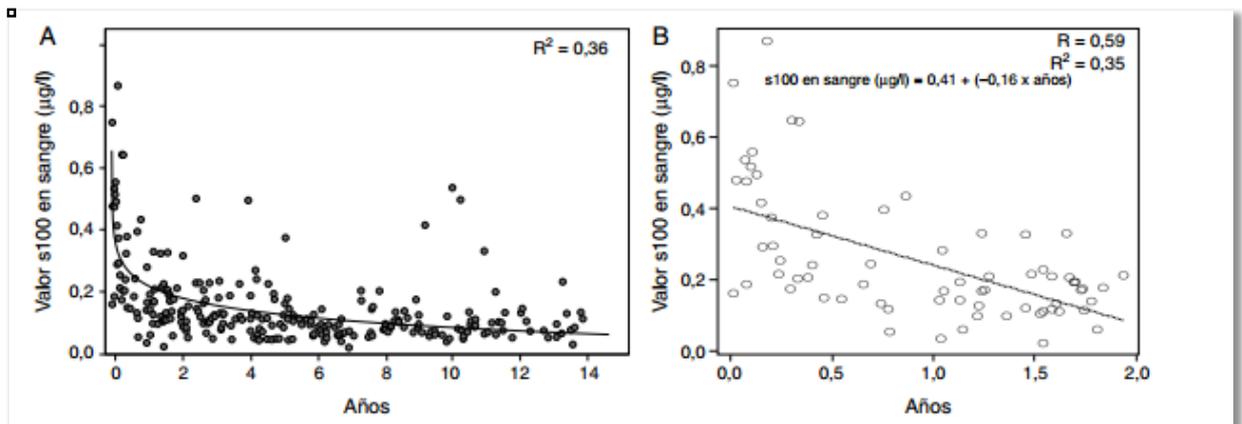


Figura 64. A) análisis de regresión: estimación curvoilínea logarítmica realizada para el conjunto de todos los datos. B) análisis de regresión lineal realizado para los datos procedentes de los pacientes de hasta 2 años.

**Tabla 1** Concentraciones de S100 $\beta$  sérica en los 3 grupos de edad considerados en el estudio, expresadas como media e intervalo de confianza (IC) del 95%

Percentil	Concentración de proteína S100 $\beta$ $\mu$ g/l (IC del 95%)		
	Menores de 12 meses (n=33)	12-24 meses (n=36)	Mayores de 24 meses (n=188)
2,5	0,076	0,030	0,043 (0,027-0,048)
5	0,119	0,043	0,048 (0,041-0,051)
10	0,145	0,066 (0,025-0,111)	0,053 (0,049-0,060)
25	0,187 (0,148-0,244)	0,113 (0,087-0,138)	0,071 (0,064-0,078)
50	0,296 (0,209-0,428)	0,168 (0,127-0,193)	0,100 (0,093-0,107)
75	0,483 (0,383-0,630)	0,209 (0,175-0,244)	0,135 (0,125-0,148)
90	0,645	0,276	0,206 (0,178-0,236)
95	0,734	0,328	0,246 (0,228-0,456)
97,5	0,830	0,331	0,410 (0,249-0,520)

*Figura 65. Concentraciones medias de S100B sérica por grupos de edad, según Hernandez y cols.*

### 3.1.3. ACCIONES DE LA PROTEÍNA S100 B.

#### A. LA DOBLE CARA DE LA PROTEÍNA S100B

S100B ejerce funciones tanto intracelulares como extracelulares. Intracelularmente, el S100B actúa como una molécula de señalización, promoviendo la proliferación neuronal, la diferenciación de oligodendrocitos y el ensamblaje de componentes del citoesqueleto, importantes para mantener la morfología de los astrocitos, facilitando al mismo tiempo la migración de astrocitos y microglías. Curiosamente, con respecto a las funciones extracelulares, S100B puede actuar como una molécula neurotrófica o neurotóxica, dependiendo de la concentración alcanzada. A concentraciones bajas y fisiológicas (ng/L), se cree que S100B promueve la extensión neurítica y la supervivencia neuronal durante el desarrollo, aumenta la proliferación astrocítica y favorece la capacidad quimiotáctica y la quiescencia de la microglía. Por el contrario, cuando una noxa desencadena una respuesta inflamatoria en el tejido neural y se activa su sistema defensivo se generan altos niveles de proteína S100 B extracelular en los fluidos biológicos (mg/L) y a estas concentraciones se comporta como un factor proinflamatorio que va a desembocar en daño neuronal.

Estas evidencias se han obtenido, principalmente de modelos animales y cultivos celulares.

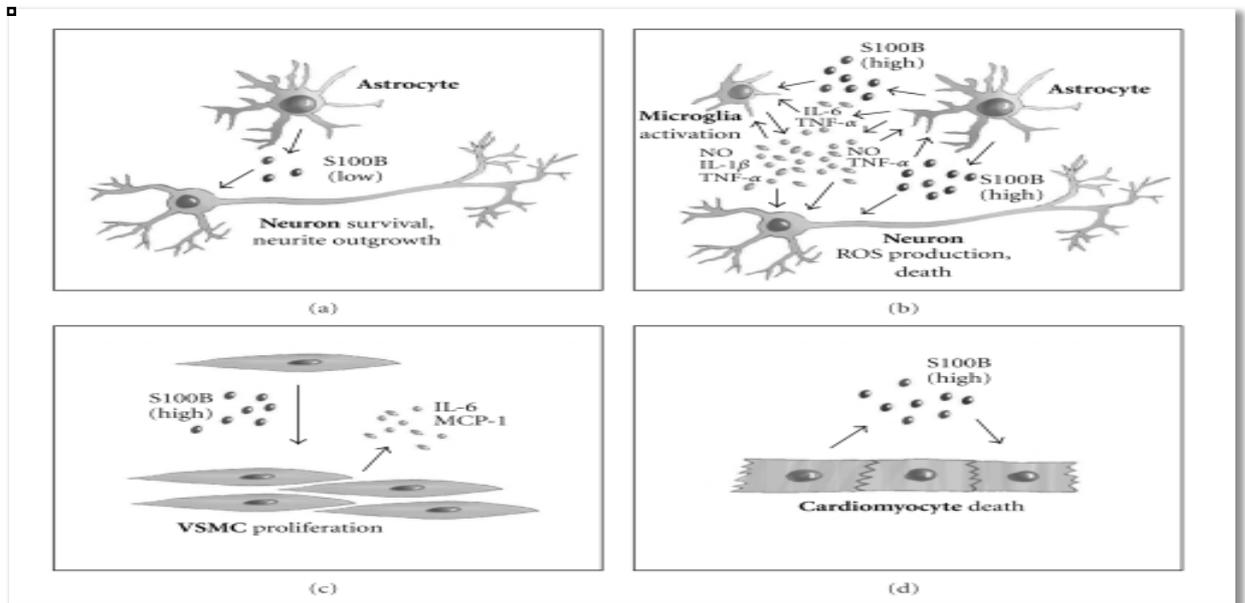


Figura 66. (A) A concentraciones bajas, S100B promueve la supervivencia neuronal y estimula el crecimiento de las neuritas mediante la activación de los receptores RAGE. (B) A concentraciones altas, S100B provoca la muerte neuronal, tanto directamente mediante la estimulación excesiva de la señalización RAGE en las neuronas como indirectamente a través de la activación de microglía y astrocitos (también dependiente de RAGE).

## B. EFECTOS BENEFICIOSOS DE LA PROTEÍNA S100B EN EL SISTEMA NERVIOSO

La proteína S100B es producida en el sistema nervioso principalmente por la célula glía: astrocitos, en el SNC, y células de Schwann, en el SNP.

Numerosos estudios documentan la importancia de esta proteína como factor neurotrófico y promotor de la supervivencia de las neuronas durante el desarrollo del sistema nervioso. Citamos algunas de sus acciones neurotróficas descritas:

- A concentraciones elevadas picomolar o bajas nanomolar, la proteína S100 B es un

inductor del crecimiento de axones y dendritas. <sup>144</sup>

- Estimula la supervivencia de las neuronas o sirve como molécula señalizadora de un grupo selectivo de neuronas durante el desarrollo. <sup>145</sup>
- Ejerce una acción neuroprotectora o neurotrófica después de una injuria al tejido nervioso. <sup>146 147</sup>
- Modula la plasticidad de las sinapsis a largo plazo. <sup>148</sup>

Estos efectos beneficiosos parecen estar mediados por la interacción de la S100 B con los receptores RAGE (*Receptor for Advanced Glycation End-products*), la estimulación del factor de transcripción NFkB y una súper-regulación en las neuronas de la proteína antiapoptótica Bcl2. <sup>149 150</sup>

Todos estos hallazgos ponen de manifiesto el papel beneficioso de la proteína S100 B durante el desarrollo del sistema nervioso y, también, tras una lesión al sistema nervioso. En este último caso, la activación de la glía induce una sobreproducción de proteína S100B, la cual interviene en los procesos de reparación del tejido nervioso. Estos hallazgos han sido publicados en diferentes trabajos, como el clásico de los doctores Gomide y Chadi, publicado en 1999 en *Brain Research*, <sup>151</sup> en el que, tras realizar una sección experimental del cuerpo caloso de ratones adultos, detectan un incremento en la concentración de la proteína S100 B, a la vez que observan al microscopio desarrollo de brotes dendríticos colaterales y sinaptogénesis.

### C. EFECTOS DELETÉREOS DE LA PROTEÍNA S100 B EN EL SISTEMA NERVIOSO

A este respecto es reveladora la enorme variedad de artículos, algunos de los cuales analizamos más adelante en el texto, que relacionan los niveles plasmáticos de proteína

S100B en animales y en humanos, tras un traumatismo craneoencefálico (TCE), con la gravedad del mismo y con el pronóstico neurológico del paciente, encontrándose una fuerte correlación entre S100B elevada y mal pronóstico, con un valor predictivo positivo muy alto.

Este efecto neurotóxico fue descrito por primera vez en un estudio ya clásico desarrollado en el Departamento de Biología celular y molecular de la Universidad de Chicago y publicado en 1997 en *Journal of Neurochemistry*.<sup>152</sup> En él se cultivaron células neurales de un neuroblastoma obtenido de rata (cultivo clasificado como B104, en las imágenes A) y también neuronas del hipocampo de cerebro de rata (imágenes B). A ambos cultivos celulares neuronales se les agregó proteína S100B bovina sintetizada por *E. coli* y purificada, a una concentración de 60 pg/ml. Además, a la mitad de los cultivos se le añadieron astrocitos y, a la otra mitad, no.

Examinados los cultivos en microscopio de fase, 24-48 horas más tarde se observó que solo en presencia de astrocitos, y no en su ausencia, la proteína S100 B inducía grandes cambios morfológicos en las neuronas (células dañadas con soma alargado, axones más cortos o fragmentados) y un menor número total de neuronas, tal como se puede observar en las imágenes del ángulo superior derecho de las dos preparaciones A y B.

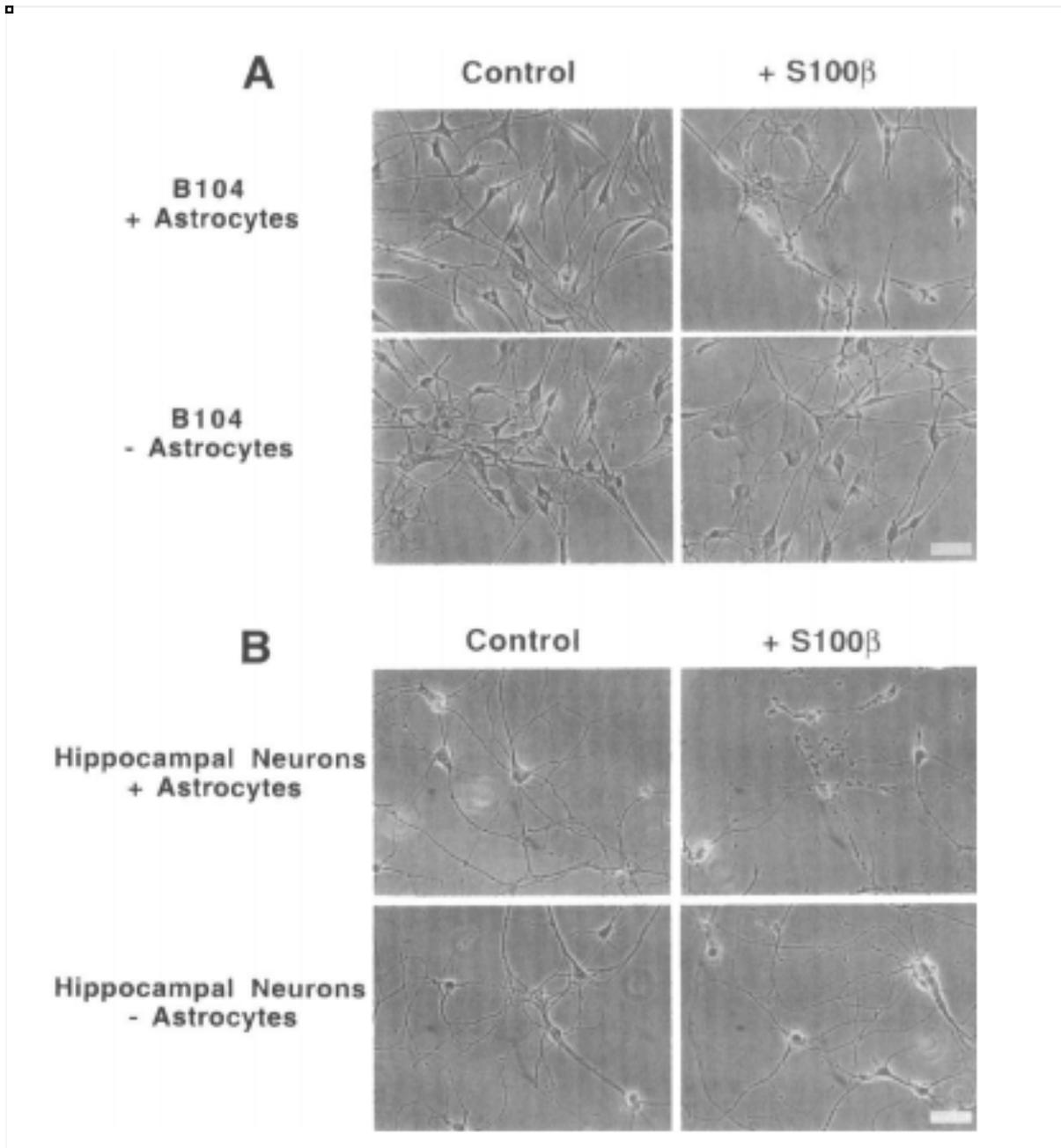


Figura 67. Cambios morfológicos en las neuronas y disminución de su número, inducidos por S100B.

El hecho de que la proteína S100B solo provocara destrucción neuronal en presencia de astrocitos es explicado por estos mismos autores en su estudio: la S100B estimula a la enzima inducible óxido nítrico sintetasa (iNOS) del astrocito para producir óxido nítrico (NO), el cual desencadena muerte de astrocitos y neuronas. Y llegan a esta conclusión porque

encuentran que la muerte neuronal se correlaciona con los niveles de NO y se bloquea si se añade a los cultivos celulares un agente inhibidor de la iNOS.

Estudios sucesivos ahondan aún más en los mecanismos de destrucción celular por la proteína S100B, que incluyen al menos dos procesos distintos: la necrosis y la apoptosis neuronal.

La acción de la proteína S100B, tanto trófica (a concentraciones nanomolares) como neurotóxica (a niveles micromolares), se efectúa a través de la interacción de la proteína con su receptor RAGE (*receptor for advanced glycation end products*).

Este receptor es una proteína de membrana presente en células muy diversas de toda la anatomía, que interactúa con diferentes moléculas y participa en muy diversas funciones. El receptor RAGE es expresado a niveles bajos en la mayoría de los tejidos, pero experimenta una superexpresión en zonas donde hay patología.

En los últimos años se ha producido un gran avance en el conocimiento a nivel molecular de los mecanismos de acción de este receptor, que sabemos que puede ser activado mediante dos mecanismos: intracelular y extracelular.<sup>153 154</sup>

A nivel intracelular, la activación del receptor RAGE está mediada por diferentes moléculas entre las cuales se han identificado: MAPKs (*mitogen-activated protein kinases*), ERK1/2 (*extracellular signal-regulated kinase*), p38, JNK (*c-Jun NH2-terminal kinase*) o el factor de transcripción nuclear kappa B (NF-KB). Este último controla varios genes involucrados en la inflamación y, además, desencadena una sobreexpresión del receptor RAGE, de forma que da lugar a un auto feed-back que se cree implicado en la inflamación crónica de diversas patologías, como el Alzheimer. El factor de transcripción nuclear kappa B, entre otros, favorece la activación de la enzima óxido nítrico sintetasa, con lo que tiene lugar un incremento de óxido nítrico en el interior de la célula capaz de producir daño o muerte de la célula (si hablamos de tejido nervioso, del astrocito o de la neurona).

A nivel extracelular, también es bastante conocida la vía por la cual la unión de la proteína S100 B al receptor RAGE se relaciona con el resultado final de daño o neuroapoptosis. La interacción proteína - receptor activa la expresión de la proteína p53, la cual se implica en la regulación de los genes Bax o los PIGs.

El gen Bax pertenece a la familia de los oncogenes Bcl-2 y, cuando se expresa, induce la liberación de citocromo C al citosol desde la pared de las mitocondrias. El citocromo C activa a la caspasa 9, enzima de gran actividad proteolítica.

Por su lado, los genes PIGs desencadenan la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que someterán a la célula a un estrés oxidativo, que también les inducirá un daño o incluso la muerte.

Además de la activación de los RAGE, la estimulación de los astrocitos perpetúa un ciclo de aumento de interleucina 6, interleucina 1  $\beta$  y factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , que magnifican y perpetúan la cascada inflamatoria incrementando el daño celular.<sup>155</sup>

### **3.1.4. PROTEÍNA S 100B: CONTEXTOS CLÍNICOS**

#### **A. TRAUMATISMO CRANEOENCEFÁLICO**

El papel de la proteína S100B como biomarcador de daño neuronal en el traumatismo craneoencefálico ha sido ampliamente estudiado y consensuado, de manera hoy en día disponemos de guías de uso clínico que incorporan los niveles de esta proteína en sangre en los algoritmos de decisión a la hora de indicar, o no, pruebas de imagen o como factor pronóstico.

Tras la agresión traumática al tejido nervioso, se produce un incremento de los niveles

de S100B por los astrocitos. Como en el traumatismo se altera la función de la barrera hematoencefálica, la elevación de proteína S100B se transmite inmediatamente a la sangre. El incremento de S100B es proporcional a la intensidad de la lesión, aunque, en las horas inmediatas al traumatismo, también se incrementará si se han lesionado tejidos musculares, grasa o hueso.

La máxima concentración sérica se alcanza a los veinte minutos tras la lesión cerebral. Por tanto, es detectable prácticamente desde el ingreso de cualquier paciente al hospital.

Se ha establecido un punto de corte de normalidad para detectar lesión intracraneal en 0,1 µg/L por el grupo de Biberthaler *et al.*, a raíz de un estudio multicéntrico en pacientes con TCE leve.<sup>156</sup> Según otros trabajos podemos considerar patológicos niveles plasmáticos superiores a 0,13-0,20µg/L.<sup>157</sup>

Sería lógico pensar que la determinación de la proteína S100B como marcador de daño neuronal en un trauma encefálico podría tener una mejor significación medida en LCR que en sangre. Sin embargo, en LCR los niveles de S100B varían con la edad y el sexo de los pacientes, matiz que no se presenta en la sangre. Este dato, asociado a la mayor dificultad clínica para obtener muestra de LCR que de sangre, hace que sea la sangre el medio de elección para su análisis.

En la actualidad, diferentes estudios avalan la asociación entre los niveles séricos de proteína S100B y la gravedad tanto clínica como radiológica (ha demostrado su valor predictivo para detección de lesiones en el TAC craneal en pacientes con buena función neurológica inicial), así como el pronóstico.<sup>158 159</sup> Algunos estudios establecen incluso puntos de corte predictores de evolución a muerte o mal pronóstico neurológico o correlacionan los patrones de liberación de S100B con la asociación de lesión secundaria o con la extensión del daño cerebral difuso. Algunos trabajos señalan que la persistencia de niveles séricos elevados después de 36 horas del trauma, o bien la aparición de picos séricos después del inicial, se asocian a muerte o resultado neurológico adverso, mientras que el descenso a las

36 horas predice supervivencia.<sup>160 161</sup>

En base a los hallazgos anteriores se postula incluso la sensibilidad de la proteína S100B como marcador de eficacia terapéutica, puesto que se ha evidenciado que desciende tras procedimientos neuroquirúrgicos efectivos.

## B. ACCIDENTE CEREBROVASCULAR

En el año 2006, un grupo de investigadores españoles del Instituto de Investigación del Valle de Hebrón publica en la revista *Stroke*<sup>162</sup> los resultados de su estudio, en el que concluyen que los niveles aumentados de S100B ayudan a discernir entre **ictus isquémico** y **hemorrágico** (elevación más inmediata en el segundo), se relacionan con el volumen de la hemorragia y, además, son predictivos de un mal pronóstico precoz y a los tres meses en los pacientes afectados.

Resultados similares son publicados posteriormente por otros autores, en pacientes que han sufrido una **hemorragia subaracnoidea**. Así, un artículo de la revista *Critical Care* del 2008, que analiza una muestra de 109 adultos ingresados en UCI después de una hemorragia subaracnoidea, establece un punto de corte de niveles plasmáticos de proteína S100 B de 0,23 mcg/L como predictor de mal resultado neurológico al alta (Glasgow < 3).<sup>163</sup>

En **patología isquémica cerebral**, en el año 2010 la revista *Cardiovascular Psychiatry and Neurology* publica un interesante artículo de revisión de los mecanismos de acción de la proteína S100B tras una lesión isquémica cerebral, en el que vuelven a destacar la “doble cara” de esta proteína: positiva, como agente estimulador de la regeneración y/o proliferación neuronal a concentraciones nanomolares en el espacio intracelular, así como negativa, retrasando la regeneración de la glía en el área perilesional y promoviendo mayor daño cerebral.<sup>164</sup>

### C. EPILEPSIA

Un grupo de investigadores de los departamentos de Neurología Pediátrica y de Bioquímica de la Universidad de Harran, en Turquía, se ha ocupado de analizar la relación entre los niveles plasmáticos de proteína S100B y epilepsia en niños. Encuentran una elevación significativa de esta proteína en sangre en los niños epilépticos, tanto en el período postcrítico (30 minutos después de sufrir una convulsión) (revista *Seizure* año 2013,<sup>165</sup> como en período intercrisis en niños con epilepsia refractaria a tratamiento (*Neuroscience* 2014,<sup>166</sup> e incluso en niños diagnosticados de espasmos del sollozo (*Epilepsy & Behavior*<sup>167</sup> ). Sugieren que el daño neuronal en todos estos casos pudiera ser secundario a hipoxia.

### D. ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA

Algunos estudios han investigado el valor de los niveles de proteína S100B en diferentes líquidos corporales (LCR, sangre y orina) como marcador de daño cerebral en recién nacidos que han sufrido una hipoxia o isquemia perinatal (encefalopatía hipóxico-isquémica o EHI). Así, y de acuerdo con el resto de contextos clínicos de lesión cerebral, parece existir una relación significativa entre S100B elevada y lesión cerebral, además de que una recuperación tardía de los niveles normales se asocia con mayor lesión cerebral.

No obstante, en estos momentos los datos son limitados y no se ha establecido un punto de corte con sensibilidad suficiente para discernir entre diferentes grados de encefalopatía ni se ha comprobado una correlación clínica entre los niveles y el resultado neurológico del recién nacido a medio-largo plazo.<sup>168 169</sup>

Algunos autores refieren un pico de S100 B en orina 2-6 horas después de la asfisia que tiene lugar en el parto. Otros informan que los niveles se mantienen elevados durante días o incluso la primera semana. Sin embargo, hay que tener en consideración que se han

publicado niveles elevados de S100B en recién nacidos en otros contextos muy diferentes a la EHI y que podrían ejercer un importante factor de confusión a la hora de su interpretación clínica: así, se encuentra S100B elevada en los casos de restricción del crecimiento intrauterino por hipoxia crónica, cuando ha habido una hipoperfusión central y periférica (que son comunes durante la recuperación de la EHI), en la infección o inflamación perinatal, en los partos traumáticos, en lesiones neurales preexistentes, en relación a tratamientos como los glucocorticoides maternos prenatales y los fármacos anestésicos, incluso en relación con la prematuridad, así como con el sexo del recién nacido. Para añadir mayor complejidad a la interpretación de los niveles de esta proteína en los recién nacidos, concluiremos este apartado con la sugerencia de que no sólo el cerebro del recién nacido es fuente de S100B, sino que pueden participar otros tejidos, como el cordón umbilical y la placenta.

## E. INFECCIONES DEL SNC

En los últimos años se han llevado a cabo estudios en humanos con el objetivo de analizar el comportamiento de la proteína S100B en las infecciones del SNC. Los datos arrojan resultados siempre en el mismo sentido: a mayores niveles de S100B mayor afectación de tejido nervioso y peor pronóstico, si bien hay que decir que estos estudios han analizado la concentración de S100B en LCR y no en plasma.<sup>170 171</sup>

Comentamos, a modo de ejemplo un artículo publicado hace tan sólo unos meses, a principios del corriente 2017, en la revista *International Journal of Neuroscience*.<sup>172</sup> En este estudio retrospectivo se comparan los niveles de proteína S100B en líquido cefalorraquídeo (LCR) de un grupo de 83 niños con infección del SNC con los niveles en 88 niños sin enfermedad del SNC tomados como control. Los casos se subdividieron en dos grupos en función de que hubiese afectación del parénquima cerebral (encefalitis) o no (meningitis). Los valores de S100B en LCR fueron significativamente más altos en el grupo de encefalitis que

en el de meningitis y que en el control, de manera que unos valores  $\geq 0.96 \mu\text{g/L}$  demostraron una sensibilidad del 62,7% y una especificidad del 76,2% para el diagnóstico de afectación parenquimatosa. Además, la S100B elevada se mostró como un predictor independiente de pronóstico desfavorable en los niños afectados de encefalitis con un punto de corte  $1.77 \mu\text{g/L}$  (sensibilidad 61.1% y especificidad 96.2%).

## F. ESCLEROSIS MÚLTIPLE

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune caracterizada por inflamación y desmielinización del sistema nervioso central (SNC) que afecta principalmente a jóvenes, con una edad media al diagnóstico de entre 20 y 40 años. Su forma más habitual de evolución es recurrente, con períodos de exacerbación y de remisión. En los estadios iniciales de la enfermedad se describe una infiltración del tejido nervioso por células T activadas y macrófagos derivados de monocitos, que destruyen la vaina de mielina dando lugar a la aparición de lesiones focales de desmielinización.

Se han encontrado niveles aumentados de proteína S100B en sangre y en líquido cefalorraquídeo de estos pacientes en fase activa de la enfermedad, así como en lesiones agudas en tejido cerebral post-mortem.<sup>173</sup> También se ha comunicado una disminución de los niveles en LCR en relación con algunos tratamientos inmunosupresores.<sup>174 175</sup> Sin embargo, queda por aclarar qué papel puede desempeñar dicha proteína y su receptor RAGE en las diferentes etapas de la enfermedad o en su progresión.

A este respecto, Barateiro y colaboradores publican en *Molecular Neurobiology* de agosto del pasado 2016<sup>176</sup> los resultados de un interesante estudio en humanos analizando muestras de sangre, LCR y de tejido cerebral postmortem. Como en estudios previos, describen una elevación de S100 B en sangre y en LCR de los pacientes con EM en fase de actividad.

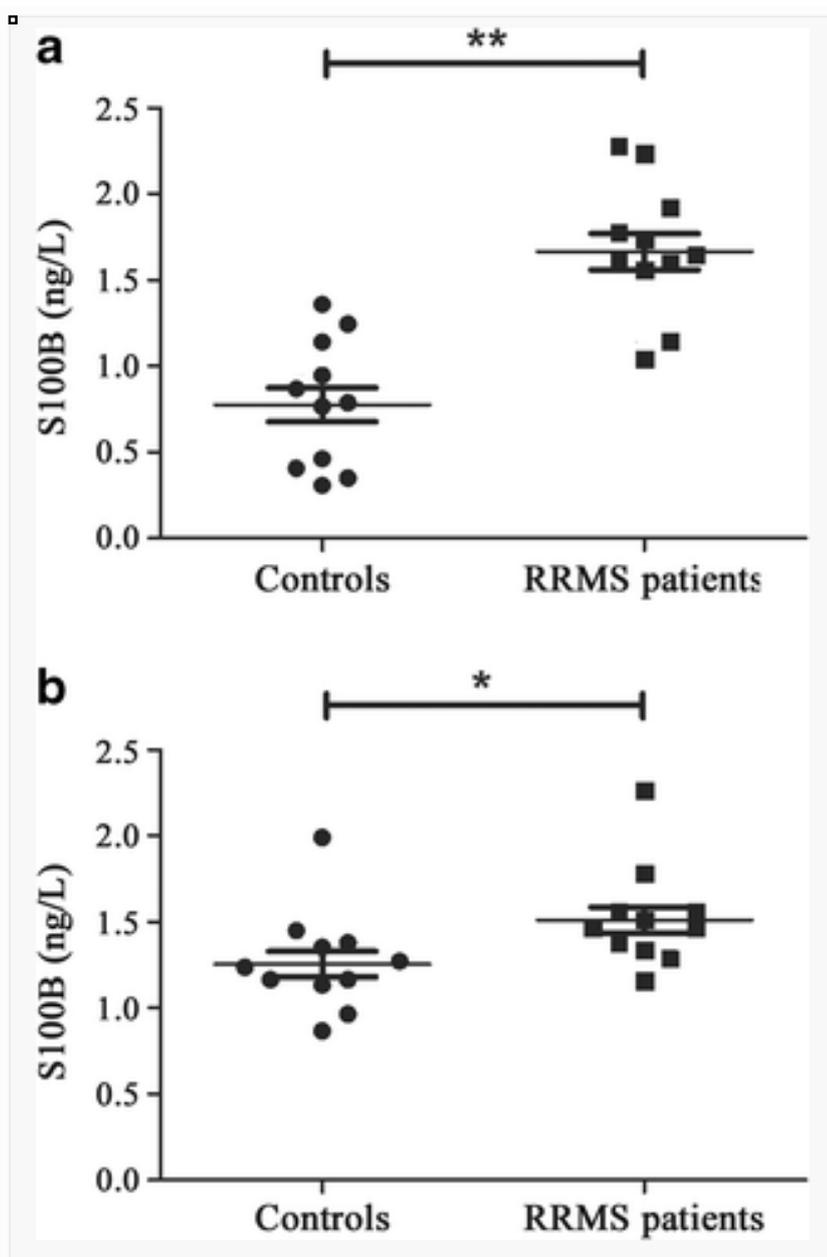


Figura 68. Rrms: relapsing-remitting ms (esclerosis multiple remitente-recurrente). A: S100B en LCR mediante ELISA. B: S100B en plasma mediante ELISA.  $**p < 0.01$  y  $*p < 0.05$  vs. Controles (significación estadística según test de main-whitney)

Analizando las muestras cerebrales post-mortem, describen una elevada sobreexpresión de S100B por los astrocitos de las placas activas junto con una mayor expresión del receptor RAGE en macrófagos / microglía.

Pero tratan de ir más allá. Sometiendo muestras de cerebelo de ratones a un proceso

de desmielinización experimental, demuestran que la desmielinización induce una marcada regulación positiva y liberación de la proteína S100B, en paralelo con la astrocitosis, la microgliosis y el aumento de la expresión génica de citoquinas proinflamatorias. La neutralización mediante anticuerpos contra S100B redujo la desmielinización inducida experimentalmente, la astrogliosis reactiva y la expresión de citoquinas proinflamatorias. De esta manera, los autores proponen que la S100B es un elemento clave en el proceso inflamatorio de las lesiones de EM y debería ser considerado como opción terapéutica a investigar.

## **G. ESQUIZOFRENIA**

También se ha tratado de analizar la posible asociación entre niveles de proteína S100 B elevados y enfermedad psiquiátrica. Concretamente, la esquizofrenia ha sido ampliamente estudiada y, si bien algunos autores describen un aumento de los niveles plasmáticos de S100 b en los pacientes afectados de esta enfermedad, otros no encuentran tal asociación.<sup>177</sup> Se desconoce además si esa posible asociación podría reflejar una disfunción de la glía, se trataría de una consecuencia de la enfermedad o de un proceso compensatorio o, incluso, si podría ser considerado un indicador de riesgo familiar.

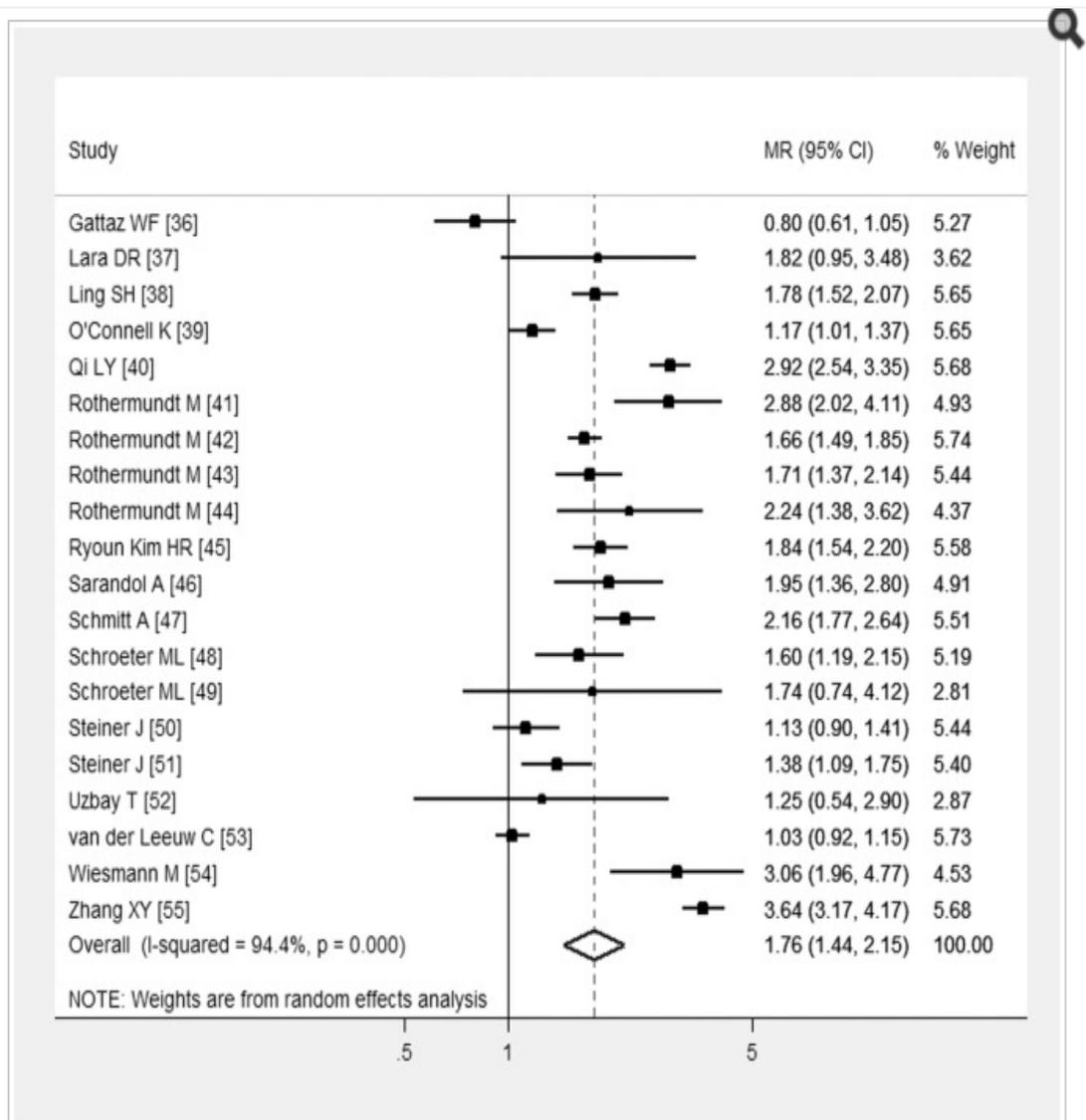
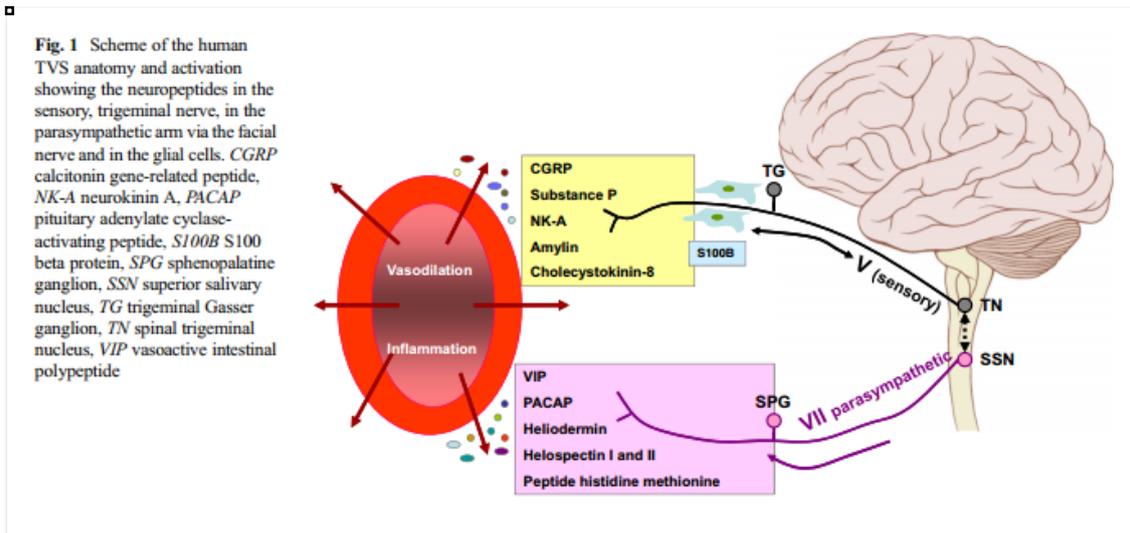


Figura 69. Systematic review and meta-analysis of circulating S100B blood levels in schizophrenia. Plos one. 2014.

## H. MIGRAÑA

Es sabido que la secreción de proteína S100B en el sistema nervioso central forma parte de la respuesta de la célula glía a un estímulo inflamatorio. De manera experimental, estimulando el nervio trigémino se obtiene un incremento en la expresión de esta proteína y se ha propuesto que esta actividad de la S100B pudiera contribuir a la sensibilización de las neuronas trigeminales y, por lo tanto, tener un impacto en la generación y el mantenimiento

de la cefalea. <sup>178</sup>



Sin embargo, investigaciones a este respecto en humanos muestran resultados dispares: elevación de los niveles de S100B en pacientes con migraña, disminución de los mismos en período interictal o, incluso, no diferencias con controles, tal como publican en su revisión Riesco y colaboradores en la revista *Current Pain and Headache Report*, en marzo de 2017. <sup>179</sup>

	ICTAL	INTERICTAL
S100B (blood) Papandreou et al. (63)		↑
Teepker et al. (64)	↑	↑
Yilmaz et al. (65)	↑	↑
Celikbilek et al. (66)		↓
Riesco et al. (in preparation) (67)		↔

Figura 70. Resultados contradictorios de niveles de S100B en períodos ictal e interictal de pacientes afectos de migraña. Por Riesco, N., Cernuda-Morollón, E. y Pascual, J.

## I. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Diversos estudios en cortes cerebrales de humanos fallecidos afectados de enfermedad de Alzheimer identifican un incremento de la expresión de S100B en las placas de actividad de la enfermedad en comparación con controles sanos. Estos hallazgos apoyan un creciente cuerpo de evidencia que sugiere que los tratamientos dirigidos a mantener los niveles homeostáticos de S100B pueden ser importantes en el envejecimiento saludable y la progresión de la AD.

La inflamación es una característica constante en el cerebro de los enfermos de Alzheimer. Sabemos que la microglía y los astrocitos activados son capaces de generar un proceso de auto-propagación neuroinflamatoria que contribuye al daño cerebral. De hecho, en estudios recientes de neuroimagen, se demuestra que las regiones de atrofia cortical están asociadas con activación microglial<sup>180</sup> y se correlacionan con la progresión clínica de la enfermedad.

Los depósitos insolubles de la proteína A $\beta$  en el cerebro de los enfermos de Alzheimer son unos inductores potentes de respuesta inflamatoria. Sin embargo, el mecanismo por el que la A $\beta$  estimula a la glía aún son parcialmente desconocidos, si bien se saben implicadas en ellos la mayoría de las proteínas de la vía del complemento y numerosas citocinas pro-inflamatorias como IL-1, TGF, IL-6 y S100B.

En ratones, la sobreexpresión de S100B se ha relacionado con cambios histológicos descritos en la enfermedad de Alzheimer, como la formación de neuritas distróficas o toxicidad neuronal y cambios clínicos como déficits de aprendizaje y de memoria<sup>181</sup> o cual nos hace pensar en que la proteína S100B debe desempeñar un papel en el proceso de esta enfermedad.

## J. PARADA CARDIORRESPIRATORIA E INFARTO DE MIOCARDIO

Disponemos de numerosísimos estudios, tanto en animales como en humanos, que avalan la estrecha relación entre la elevación de proteína S100B plasmática después de una parada cardiorrespiratoria y muerte o pobre resultado neurológico.

Los hallazgos en este sentido son consistentes hasta tal punto que disponemos en la actualidad de puntos de corte de proteína S100B en plasma (con pequeñas diferencias en los distintos trabajos) con alto valor predictivo positivo y negativo de muerte o mal pronóstico neurológico en pacientes que han sobrevivido a una parada cardiorrespiratoria.

Sin embargo, sabemos que en el infarto de miocardio se produce una activación de la producción y secreción de proteína S100B en el propio miocito y, aunque este dato parece no influir en el valor predictivo de la S100B de mal resultado neurológico, aún permanece en discusión en qué grado podría contribuir a esos niveles elevados en sangre el daño cerebral isquémico y la secreción a nivel del miocardio. De hecho, se ha constatado una relación positiva y significativa entre los niveles de S100B y troponina I en ratas sometidas a isquemia miocárdica <sup>182</sup> y en humanos en el postoperatorio de cirugía cardíaca. <sup>183</sup>

Tratamos de explicar en este apartado el papel de la proteína S100B en el tejido miocárdico que ha sufrido un infarto.

El miocito del adulto es una célula muy diferenciada y que ha perdido su potencial de reproducción. Por ello, cuando el miocardio tiene que incrementar su trabajo responde a expensas de hipertrofiar de manera individual sus células. Este proceso, que inicialmente es compensador, puede desembocar en una dilatación irreversible del ventrículo que finalmente conduzca al fallo cardíaco. Por ello, la activación de la hipertrofia de los miocitos se acompaña de su propio mecanismo de regulación. Modelos experimentales sugieren que la expresión de la proteína S100 B juega un papel importante en el equilibrio entre la hipertrofia compensatoria y su progresión descontrolada.

Sabemos que después de un infarto cardíaco (en ratas y también en humanos) se produce una sobreexpresión de la proteína S100B en el área periinfarto. El gráfico obtenido del trabajo de los doctores Tsoropis, Mohammadzadeh y Parker postula los mecanismos bioquímicos en los que estaría implicada la proteína S100B en el miocardio.

La activación por norepinefrina (NE) de los receptores alfa-1 induce, por un lado, la hipertrofia del miocito a través de la activación por mecanismo calcio-dependiente de la enzima Proteín Kinasa (PKC) que participa en la fosforilación del Factor de Potenciación de la Transcripción-1 (TEF-1), el cual interactúa con el DNA activando la transcripción del Promotor de la Cadena Pesada de la Beta-Miosina ( $\beta$ -MHC Promoter).

Pero, por otro lado, la NE (junto con otras señales de hipertrofia no mostradas en el gráfico), también por un mecanismo mediado por el calcio, estimula a la proteína S100B para que bloquee la fosforilación del TEF-1 por la PKC, lo que inhibirá la transcripción de Beta-MHC, ejerciendo un autocontrol del proceso.

Por otro lado, expresado en la zona superior del dibujo, el aumento de S100B secretada activa el receptor RAGE, el cual, por una vía que implica a la Kinasa Regulada por la Señal Extracelular  $\frac{1}{2}$  (MEK1/2) y a la proteína P53, que conlleva a la apoptosis del miocito.

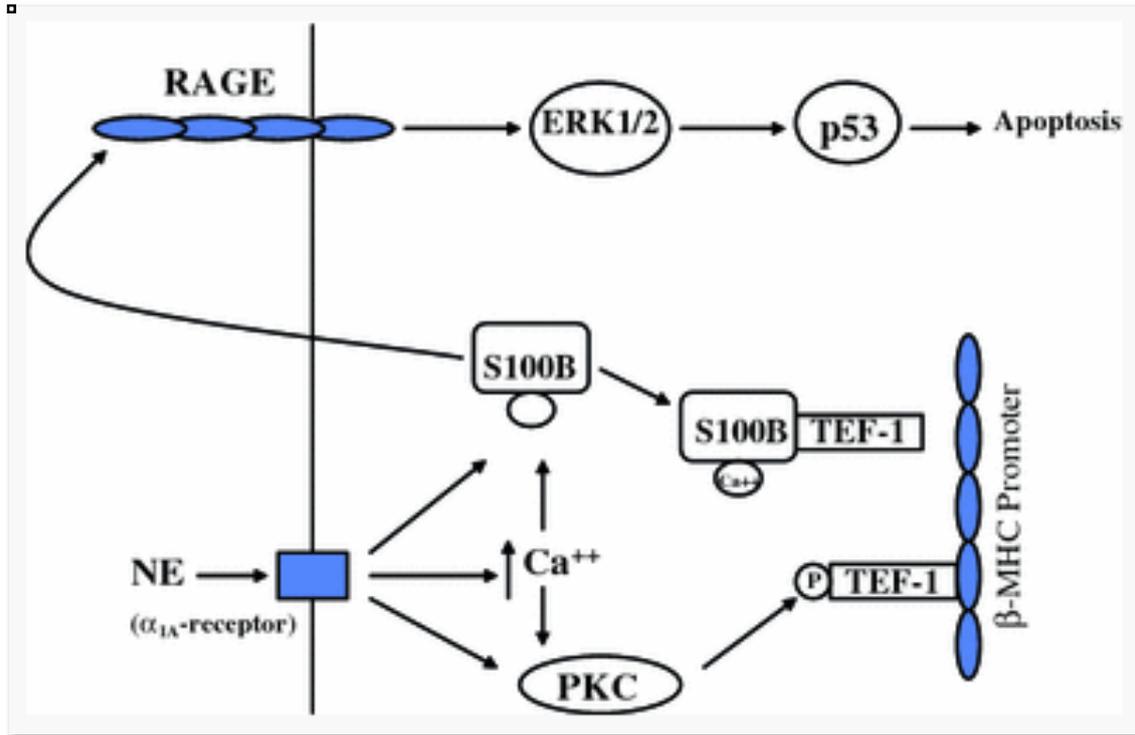


Figura 71. Mecanismos de acción de la proteína s100b en el tejido miocárdico.

Podemos concluir, entonces, que, en la actualidad, la proteína S100B parece jugar un papel modulador del remodelado del ventrículo izquierdo tras el infarto y, si bien es responsable de controlar la hipertrofia miocárdica y las alteraciones asociadas en cuanto a expresión de genes, también induce apoptosis de miocito y, en general, parece tener un efecto deletéreo, puesto que sus niveles elevados se relacionan con deterioro progresivo de la función ventricular y con mayor mortalidad postinfarto.<sup>184</sup>

## K. SÍNDROME DE DOWN

El síndrome de Down es una anomalía genética caracterizada por la triplicación del cromosoma 21, siendo suficiente, para que aparezca el síndrome, con la triplicación de la denominada “región crítica”, un fragmente pequeño del brazo corto del cromosoma 21 (21q22.3).

Además de en las anomalías físicas y el déficit intelectual, los genes contenidos en el cromosoma 21 parecen estar involucrados en los cambios neuropatológicos y cognitivos de la Enfermedad de Alzheimer.

En dicho fragmento del cromosoma 21 se ha identificado al gen que codifica la proteína precursora (APP) del  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), presente en las placas  $A\beta$  que se han observado en los cerebros de pacientes enfermos de Alzheimer así como en los cerebros de adultos con Síndrome de Down e incluso en niños.

En este fragmento del cromosoma 21 también se codifica la proteína S100B.

La triplicación del cromosoma 21 está en la base de los mecanismos implicados en el inicio y la perpetuación del ciclo neurodegenerativo: la sobreexpresión de dos productos de los genes que codifica: la APP y la proteína S100B. Ambas conllevan una sobreproducción de la Interleukina 1 y otros mediadores inflamatorios que finalmente pueden desarrollar neuroinflamación, gliosis y cambios neuropatológicos característicos de la EA.<sup>185</sup>

## L. OTROS CONTEXTOS

UN estudio reciente publicado en 2014 analiza la utilidad de los valores séricos de S100B para el diagnóstico del vértigo agudo en un servicio de urgencias. Encuentra que los niveles séricos de S100B se asociaron con la presencia de causas centrales de vértigo en RM craneal de manera significativa.<sup>186</sup>

## M. LECHE MATERNA

Un estudio llevado a cabo en la Universidad de Harbin, en China, y publicado en el año 2011 en *Plos One*, investigó la presencia en la leche materna de la proteína S100B y otras dos proteínas denominadas BDNF y GDNF. Las tres están implicadas críticamente en

el desarrollo y mantenimiento del sistema nervioso central y en la supervivencia y la proliferación neuronal. Se constató la presencia de las tres proteínas en la leche materna a los 3, 10 y 30 días tras el parto. Los niveles de proteína S100B presentaban un pico a los 30 días postparto, mientras las otras dos proteínas no mostraban grandes variaciones en el tiempo.<sup>187</sup>

CITOCINAS	DÍA 3	DÍA 10	DÍA 30	P
S100B (ng/L)	1249.79 ± 398.10	1345.05 ± 539.16	1481.83 ± 573.30	0.034
BDNF (µg/L)	10.99 ± 4.55	13.01 ± 5.88	13.35 ± 6.43	0.205
GDNF (µg/L)	10.90 ± 1.65	11.38 ± 1.78	11.29 ± 3.10	0.831

Figura 72. Citocinas en la leche humana de mujeres chinas durante el día 3, 10 y 30 después del parto (n = 24)

Las concentraciones de proteína S100B obtenidas en leche son significativamente más altas que las conocidas en suero, lo cual sugiere la posibilidad de que las células del epitelio mamario la produzcan.

Aunque el significado bioquímico de estos factores en la leche humana permanece desconocido, los estudios sugieren que podrían desempeñar un papel neurotrófico que modularía la función gastrointestinal y posiblemente el neurodesarrollo durante el amamantamiento y a largo plazo.<sup>188</sup>

## 3.2. RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

### 3.2.1. FUNDAMENTOS FÍSICOS BÁSICOS

El principio fundamental de la imagen obtenida mediante técnicas de resonancia es que los diferentes átomos absorben energía de distinta manera al ser sometidos a ciertas frecuencias de un campo magnético.

De las diferentes técnicas de adquisición de imagen, la que plantea una mayor dificultad teórica a la hora de intentar explicar y comprender su forma de adquirir y generar la imagen es precisamente ésta, la resonancia. Probablemente porque su funcionamiento está basado en el principio físico del magnetismo y su manipulación mediante operaciones matemáticas e informáticas.

Podemos definir el magnetismo como la propiedad física por la que unos objetos ejercen fuerzas de atracción o repulsión sobre otros. Depende de la estructura molecular de los objetos y de la forma de ordenarse los electrones y protones en sus átomos.

Según la Historia, en el año 1600 el inglés Gilbert describe el campo magnético de la Tierra, aunque tenemos constancia de que los chinos usaban la brújula desde hacía siglos, la cual se basa en la orientación de una aguja imantada en relación al campo magnético terrestre, que es máximo en los polos. Nuestro equipo de resonancia genera un campo magnético que es 25.000 veces más potente que el campo terrestre en este punto.

Todos sabemos que hay piedras que, de modo natural, por su composición, son imanes y atraen a los metales. Pero nos interesamos ahora en una propiedad física fundamental en resonancia: *cualquier carga eléctrica en movimiento genera un campo magnético*. Este es el principio que se utiliza en los electroimanes o solenoides. Además, dicho campo magnético tiene un polo norte y otro sur y una dirección, que es la de la corriente. En las resonancias de alto campo, como la nuestra de 1.5 T, el campo magnético lo genera

un electroimán y da lugar a una corriente eléctrica que circula por un superconductor refrigerado a temperaturas mínimas por helio.

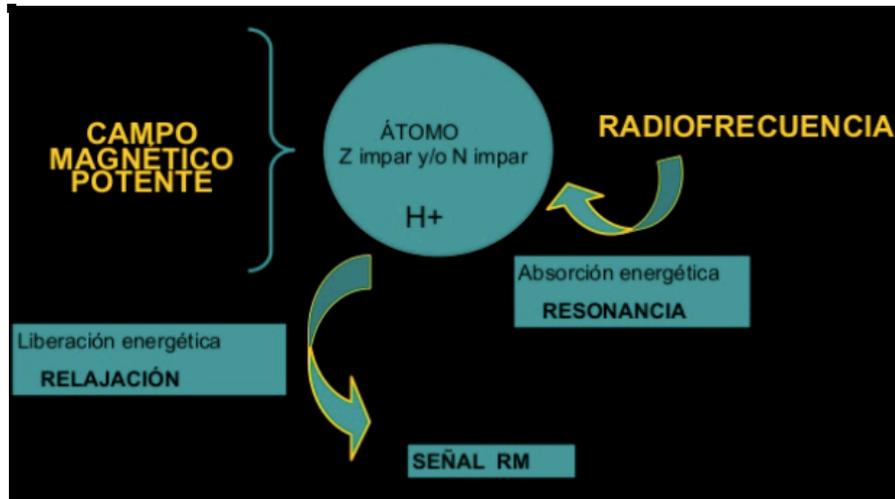


Figura 73. Fundamentos físicos de la resonancia magnética.

La molécula más abundante en el organismo humano es la de agua, formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno. El átomo de hidrógeno consta de una carga positiva en su núcleo (el protón) y una negativa (el electrón) en su corteza. Si consideramos al protón como carga positiva en movimiento, él es un pequeño campo magnético, al cual se le llama *spin* y se representa con un vector, teniendo por tanto una magnitud, una dirección y un sentido.

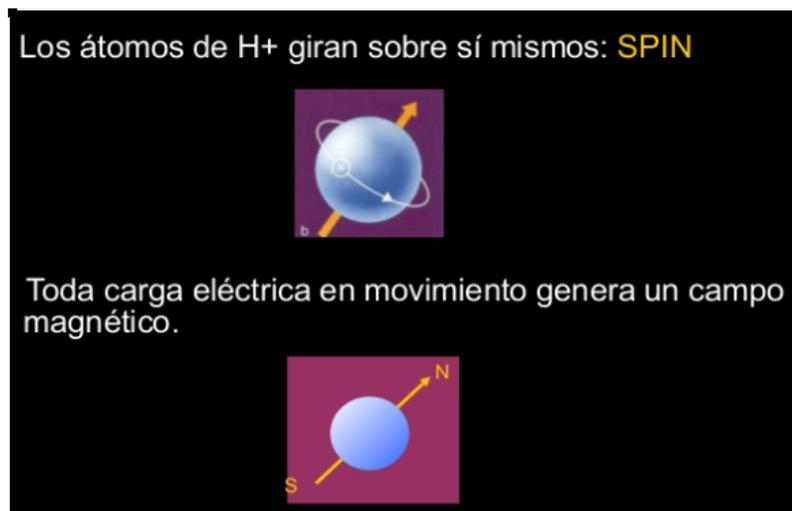


Figura 74. Generación del campo magnético en la resonancia magnética nuclear.

Vamos a ver lo que ocurre con estos pequeños campos magnéticos cuando los introducimos en un campo magnético muy intenso, el generado por el tubo de la resonancia.

En esta circunstancia, los spines se ordenan en la dirección del campo magnético intenso, unos se orientan en el mismo sentido y otros en sentido contrario, pero existiendo un mínimo exceso de spines en el mismo sentido del campo magnético, lo que hace que el vector suma de todos ellos, o *vector neto de magnetización*, esté dirigido en la misma dirección y sentido que el vector del campo intenso.

También los protones dentro del campo magnético tienen un movimiento de giro similar al de una peonza, llamado *movimiento de precesión*. Su vector de magnetización también gira del mismo modo, siendo dependiente la frecuencia de tal movimiento de la intensidad del campo magnético. Si pudiéramos tomar una fotografía de los spines dentro del campo magnético, los veríamos como vectores inclinados, dando un vector suma o vector neto de magnetización con un componente longitudinal en el mismo sentido que el campo y un componente transversal 0 porque la precesión no está coordinada o en fase. Es decir, el movimiento de todos ellos se produce a la misma velocidad, pero en cada instante la

orientación es diferente en cada uno de ellos.

La frecuencia de precesión depende de la intensidad del campo magnético en cada punto. La aplicación de un *pulso de radiofrecuencia* hace que el número de protones dirigidos en uno y otro sentido del campo magnético sea el mismo, igualando por tanto a cero el componente longitudinal del vector de magnetización. Además, provoca que el movimiento de precesión se produzca en fase, es decir que todos se muevan a la vez y se produzca un *vector de magnetización con componente transversal*, suma de los vectores individuales. En este momento el *vector de magnetización neto es transversal*.

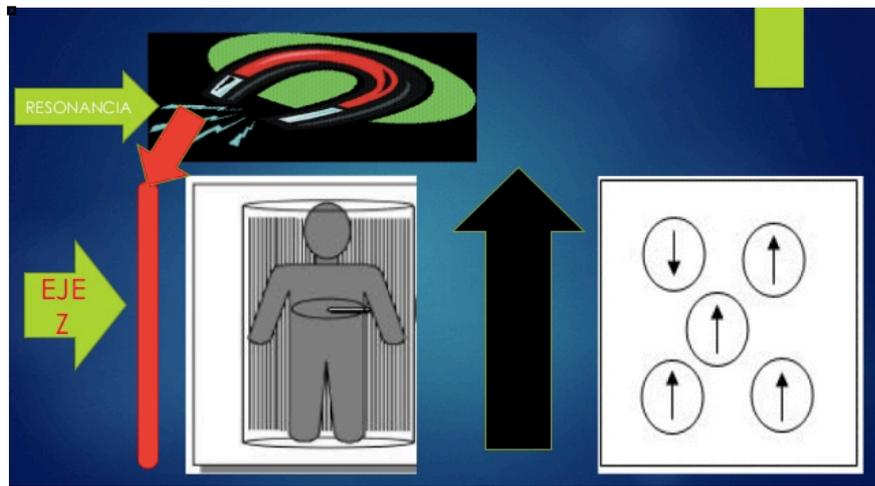


Figura 75. Vector de magnetización neto.

Para que se produzcan estos efectos es necesario que la onda de radiofrecuencia tenga la misma frecuencia que el movimiento de precesión de los protones, que como sabemos varía en relación con la intensidad del campo magnético.

Antes hemos dicho que cualquier carga eléctrica en movimiento genera un campo magnético. A la inversa, un campo magnético girando frente a una bobina genera una corriente eléctrica.

Las antenas que usamos en resonancia son bobinas receptoras. La presencia de un campo magnético girando frente a una *bobina receptora* origina una corriente eléctrica en ésta. A partir del análisis de sus características podremos obtener la imagen de resonancia magnética.

Cuando termina el pulso de radiofrecuencia los protones se orientan del modo en que estaban inicialmente y por tanto se recupera el vector de magnetización longitudinal. A este proceso se le llama *relajación T1*. Además, los protones empiezan a girar de modo descoordinado, es decir pierden la fase, el vector de magnetización transversal tiende a 0. A este fenómeno se le llama *relajación T2*. Ambos fenómenos se producen de modo simultáneo e independiente. Además, la relajación T1 es más lenta. La velocidad con la que ocurre un fenómeno y otro en los tejidos y la *densidad de protones* de éste son las características que van a determinar su señal en resonancia.

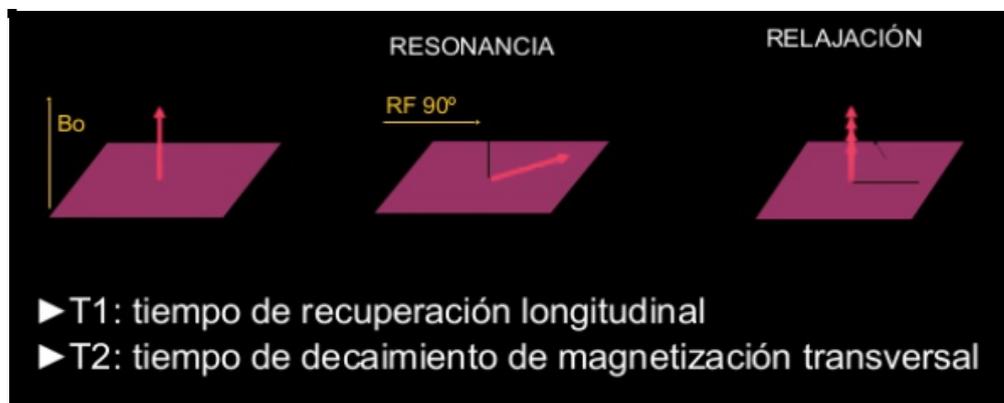


Figura 76. Principios físicos de las imágenes en T1 y T2 de la resonancia magnética.

Expresado con otras palabras: el campo magnético externo generado por la máquina tiene en una magnitud y dirección constante. En situación basal hay un exceso de spines alineados en dirección del campo que generan un vector neto de magnetización longitudinal

que no está “enfrentado” a la bobina y que no genera por tanto corriente eléctrica. No existe componente horizontal del vector de magnetización neto porque los spines no están girando a la “vez” o en fase. Cuando se aplica un pulso de radiofrecuencia con una frecuencia igual a la de precesión de los protones se producen dos efectos diferentes. Se igualan los spines que tienen la misma dirección del campo magnético y los que tienen distinta dirección, anulando el componente longitudinal del vector de magnetización, y comienzan a girar a la vez o en fase, generando un vector neto de magnetización horizontal enfrentado a la bobina que produce corriente eléctrica, que es la que usamos en resonancia para generar la señal. Cuando cesa el pulso de radiofrecuencia se vuelve paulatinamente a las condiciones basales. El giro deja de ser “ordenado” y desaparece el vector de magnetización horizontal, efecto que se denomina relajación T2 y la alineación de los protones en relación a la dirección del campo vuelve a condiciones basales, generando un vector de magnetización horizontal en la misma dirección que el campo externo (relajación T1). Ambos efectos son simultáneos pero independientes, la relajación T2 es más rápida. Cada tejido tiene una velocidad de relajación T1 y T2 específicas, estas características y su concentración de protones nos van a servir para distinguirlos. La sustancia gris y blanca se comportan de modo diferente en una y otra secuencias. *Los diferentes comportamientos de los tejidos y el contraste entre ellos en las diferentes secuencias de pulso, nos permiten distinguir unos de otros y detectar la presencia de patologías.*

	T1	T2
agua	negro	blanco
grasa	blanco	gris
tejidos sólidos	variable	variable
fibrosis	negro	negro
hueso cortical	negro	negro
hueso esponjoso	variable	variable

Figura 77. Imagen en T1 y T2 de las distintas estructuras corporales.

### 3.2.2. EQUIPOS Y ANTENAS

Existen muchos tipos de máquinas de RMN: abiertas, cerradas y de pie. En la abierta, la forma del aparato es en C mientras que en la cerrada adquiere una forma tubular. A diferencia de otras técnicas radiológicas, y como hemos visto en la parte de fundamentos físicos, la RMN no emplea radiaciones. La imagen se obtiene empleando ondas de radio e imanes. Según el flujo magnético que es capaz de generar el imán se clasifican en: de bajo campo (0.23T, 0.35T, 0.5T) y de alto campo (1T, 1.5T, 3T), teniendo en cuenta la equivalencia de 10.000 Gauss = 1 Tesla (T). En todos los equipos necesitamos utilizar antenas para poder obtener la señal de los tejidos y transformarla en una imagen. Las antenas pueden ser lineales o de cuadratura, según necesitemos obtener información a lo largo de solo un eje del espacio o de dos ejes espaciales. Además, las de cuadratura pueden ser envolventes, que rodean total o parcialmente al paciente.



*Figura 78. Zona de resonancia magnética del Hospital Universitario de Puerto Real.*

### **3.2.3. LOS PLANOS ANATÓMICOS**

Las imágenes obtenidas con la RMN se denominan coloquialmente “cortes”. Estas imágenes corresponden a la una "línea de corte" que recorre un plano espacial. Los planos espaciales son tres: axial, coronal y sagital. El axial o transversal es el que divide al paciente en dos mitades, una superior y otra inferior. El plano coronal o frontal divide al paciente en anterior y posterior. Por último, el corte sagital nos ofrece una división corporal en derecha e izquierda.



*Figura 79. Planos principales de resonancia magnética craneal.*

Axial

Sagital

Coronal

### 3.2.4. PROCEDIMIENTO

Para realizar una RM de la cabeza y debido a que existen distintas estructuras anatómicas, solemos utilizar más de un "corte". El paciente debe colocarse en decúbito supino, con los brazos a lo largo del cuerpo. Se emplea una antena específica de cráneo.



*Figura 80. Antena para la resonancia magnética craneal.*

Se calza la cabeza del paciente con almohadillas a ambos lados para mantener las líneas de centrado. Se comienza el estudio con una *Secuencia Localizadora* en la que se obtienen los tres planos espaciales: axial, sagital y coronal. A continuación, se realizan los cortes, generalmente primero los del plano sagital, luego los axiales y por último los coronales. Finalmente, se potencian las imágenes tanto en T1 como en T2, para apreciar mejor los diferentes tejidos estudiados.



## **II. HIPÓTESIS**



## **1. HIPÓTESIS**

La proteína S100B sérica es un marcador de daño cerebral. Si cuantificamos su concentración en plasma en pacientes pediátricos antes y después de ser expuestos a anestesia general con un agente inhalado (sevoflurano), podremos evidenciar si éste les ha ocasionado, o no, toxicidad neural.



# **III. OBJETIVOS**



# 1. OBJETIVOS

## 1.1. OBJETIVO PRINCIPAL

- Evaluar el impacto a nivel cerebral de la anestesia general con un único fármaco, el sevoflurano.

## 1.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Estudiar el comportamiento de la proteína S100B sérica antes y después de la anestesia general.
- Contrastar la variación de la concentración de la proteína S100B sérica utilizando la diferencia entre la concentración de la proteína S100B sérica antes y después de la exposición a sevoflurano.
- Detallar la correlación entre el incremento de la proteína S100B sérica tras la anestesia general y el tiempo de exposición al sevoflurano o duración de la prueba diagnóstica.
- Esclarecer la correlación entre las dosis de sevoflurano suministrado y la variación de la proteína S100B sérica.



# **IV . MATERIAL Y METODOS**



## **1. INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN**

Presentado el proyecto del estudio a la Comisión Permanente del Comité de Ética de la Investigación del Hospital Universitario de Puerto Real, Bahía de Cádiz-La Janda y Campo de Gibraltar, ésta ha ponderado y evaluado la propuesta del Investigador Colaborador, doña María Victoria Ramos Ramos, para realizar este proyecto de investigación, emitiendo un dictamen FAVORABLE con registro número CEI15\_10.

Este dictamen detalla que el proyecto cumple los requisitos de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio, la capacidad del investigador y lo apropiado de los medios para llevarlo a cabo.

Quedan debidamente justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes. Se manifiesta que el procedimiento para obtener el consentimiento informado ha sido el adecuado.

Se refleja en él la no existencia de conflictos económicos que pudieran originar problemas éticos.

## 2. CRONOGRAMA

- Inicio del proyecto: Febrero de 2015
- Revisión bibliográfica: Febrero-Marzo de 2015
- Presentación del proyecto al Comité de Ética del Hospital: Abril de 2015
- Presentación del proyecto a la Comisión de Doctorado: Junio de 2015
- Fase de pilotaje: Junio de 2015
- Recogida y procesamiento de datos: Hasta julio de 2015
- Tabulación de datos, análisis estadístico, interpretación y evaluación de los resultados:  
Agosto-septiembre 2015
- Presentación de la Tesis Doctoral en la Fase extraordinaria de Acceso a alumnos de planes extinguidos: Noviembre de 2016
- Lectura y defensa de la Tesis Doctoral: Junio de 2017

### 3. AMBITO DEL ESTUDIO

El trabajo de campo de nuestro estudio tuvo lugar en el Hospital Universitario de Puerto Real (HUPR), en la provincia de Cádiz, durante los años 2015 y 2016.

La provincia de Cádiz es una de las ocho que constituyen la Comunidad Autónoma de Andalucía, al sur de España. Según datos consultados en el Instituto Nacional de Estadística, la población total en esta provincia en el año 2016 era de 1.239.889 habitantes.

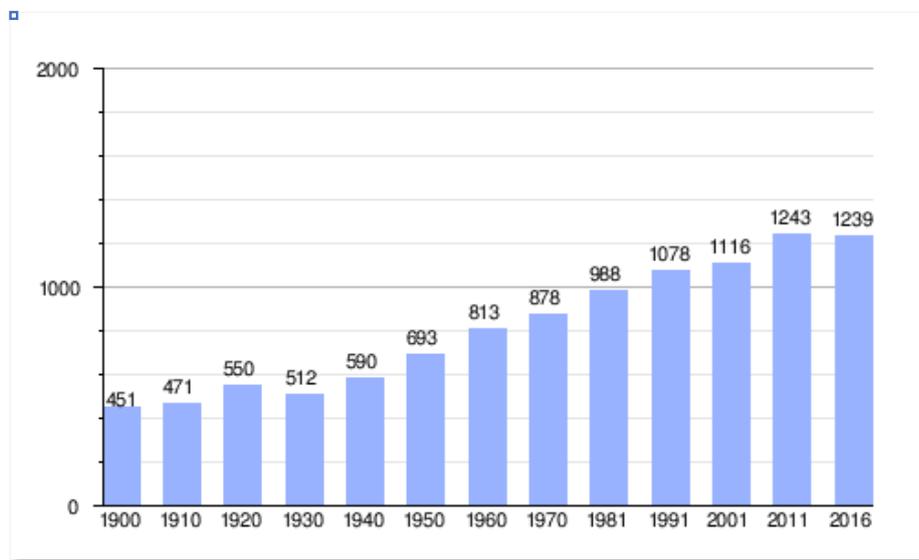


Figura 81. Datos poblacionales del INE (1900-2016) de la provincia de Cádiz

La tasa bruta de natalidad (nacidos vivos por cada mil habitantes) registrada en el año 2016 era de 9,47% y la de 2015 de 9,61%.

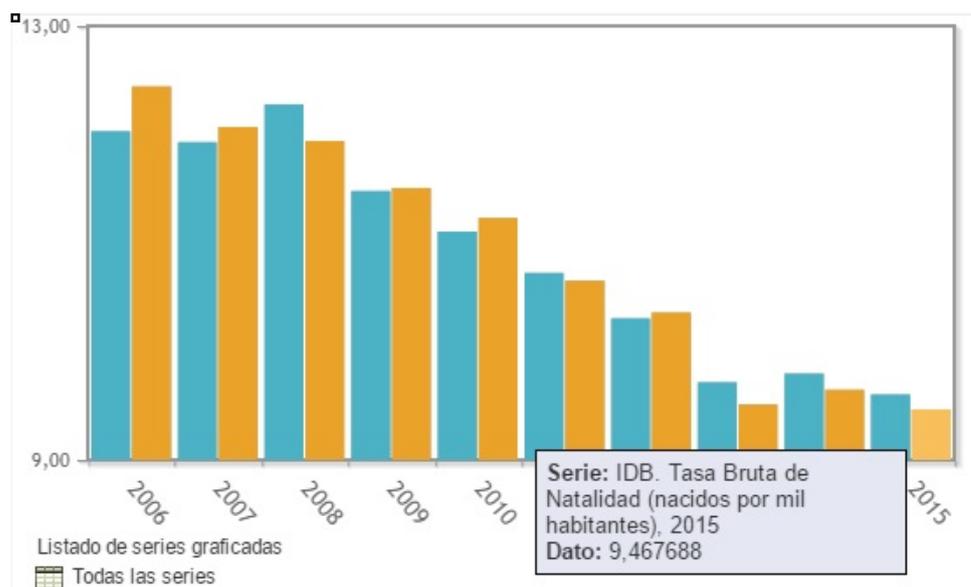


Figura 82. Tasa bruta de natalidad. En azul, para Andalucía. En amarillo, para la provincia de Cádiz.

En términos estadísticos, entendemos por población pediátrica aquella cuya edad está comprendida entre los 0 y los 15 años. Según fuentes del Instituto Nacional de Estadística, este grupo de población ascendía en el año 2016 a 218.402 habitantes en la provincia de Cádiz, de un total de 1.445.726 en Andalucía, siendo la tercera mayor de la comunidad después de Sevilla y Málaga.

Revisión del Padrón Municipal de Habitantes a 1 de enero de 2016. Datos provisionales

Población de Andalucía por provincia de residencia, nacionalidad y grandes grupos de edad

Provincias	Españoles					Extranjeros					Total				
	0-15 años	16-44 años	45-64 años	65 años y más	Total	0-15 años	16-44 años	45-64 años	65 años y más	Total	0-15 años	16-44 años	45-64 años	65 años y más	Total
Almería	103.722	221.840	152.068	88.061	565.691	24.391	75.453	26.959	10.704	137.507	128.113	297.293	179.027	98.765	703.198
Cádiz	212.213	466.297	332.635	187.207	1.198.352	6.189	21.920	10.033	3.078	41.220	218.402	488.217	342.868	190.285	1.239.572
Córdoba	124.481	285.453	215.495	145.345	770.774	3.136	12.370	3.921	690	20.117	127.617	297.823	219.416	146.035	790.891
Granada	142.714	323.757	237.463	153.309	857.243	7.841	32.519	12.173	4.931	57.464	150.555	356.276	249.636	158.240	914.707
Huelva	82.303	183.920	129.689	81.735	477.647	5.647	25.080	8.820	1.451	40.998	87.950	209.000	138.509	83.186	518.645
Jaén	99.362	236.201	176.654	119.439	631.656	2.418	10.021	3.341	508	16.288	101.780	246.222	179.995	119.947	647.944
Málaga	249.221	532.854	380.767	226.094	1.388.936	30.600	102.227	62.452	43.276	238.555	279.821	635.081	443.219	269.370	1.627.491
Sevilla	342.524	727.465	503.626	300.622	1.874.237	8.964	40.466	12.890	2.208	64.528	351.488	767.931	516.516	302.830	1.938.765
<b>Total Andalucía</b>	<b>1.356.540</b>	<b>2.977.787</b>	<b>2.128.397</b>	<b>1.301.812</b>	<b>7.764.536</b>	<b>89.186</b>	<b>320.056</b>	<b>140.589</b>	<b>66.846</b>	<b>616.677</b>	<b>1.445.726</b>	<b>3.297.843</b>	<b>2.268.986</b>	<b>1.368.658</b>	<b>8.381.213</b>

Fuente: INE

Figura 83. Población de Andalucía, por provincias, nacionalidad y grupos de edad.

El hospital de Puerto Real es el centro hospitalario de referencia para el distrito sanitario Bahía de Cádiz-La Janda, teniendo como hospital de tercer nivel de la provincia el Puerta del Mar, en Cádiz, dotado de servicios de cirugía pediátrica y de cuidados intensivos pediátricos y neonatales. Ambos dependen del Sistema Andaluz de Salud.

El distrito sanitario al cual ofrece el HUPR asistencia especializada incluye varias zonas básicas de salud: Barbate, Chiclana de la Frontera, Conil, Medina Sidonia, Vejer de la Frontera, el Puerto de Santa María, y Puerto Real, las cuales aportan una población de algo más de 200.000 habitantes.



*Figura 84. Mapa sanitario de la provincia de Cádiz.*

La población pediátrica evaluada por el Servicio de Anestesiología y Reanimación del HUPR para ser sometida a algún procedimiento quirúrgico o sedación en el centro, según datos de los años 2013 y 2014, es de una media de 400 pacientes por año, sin contar los pacientes anestesiados "de urgencia". De este total de pacientes pediátricos, la mitad (unos 200 casos al año) corresponden a cirugía de adenoamigdalectomía, 150 a estudios de imagen (RMN) y el resto se distribuye entre pacientes que acuden a inyección de toxina botulínica bajo sedación por parte del Servicio de Medicina Física y Rehabilitación y un pequeño grupo de niños remitidos por el Servicio de Oftalmología para sondajes lacrimonasales.

## **4. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.**

La población del estudio la forman pacientes en edad pediátrica (entre 0 y 14 años) pertenecientes al área de influencia de nuestro hospital, procedentes de las Consultas Externas de Pediatría y propuestos por el pediatra para la realización de una resonancia magnética nuclear de cráneo bajo anestesia general, por cefalea. Se decidió limitar a cefalea el motivo de realización de la prueba por ser el más frecuente y con el objetivo de homogeneizar al máximo la muestra.

Se excluyeron todos aquellos niños con antecedentes de prematuridad, enfermedad neurológica, hepática o renal, tumor de partes blandas o cartílagos y traumatismo musculoesquelético severo en los tres meses anteriores. También se excluyeron aquellos cuya solicitud de resonancia se realizó de manera urgente y todos los que tuvieron el resultado de la prueba como no normal.

Los pacientes fueron seleccionados de forma consecutiva desde abril de 2015 a abril de 2016.

Todos los niños incluidos habían sido valorados previamente en consulta de preanestesia y catalogados como de bajo riesgo anestésico, puesto que los de alto riesgo no se anestesian de manera programada en nuestro hospital.

El motivo fundamental de la selección de niños frente a adultos fue que se ha comprobado en animales de experimentación que en las fases de rápido neurodesarrollo es en las que una exposición a un agente lesivo puede desencadenar un mayor daño.

## **5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.**

### **5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes pediátricos de ambos sexos con edades comprendidas entre 0 y 14 años.
- Previamente historiados y examinados en la consulta de preanestesia y catalogados como de bajo riesgo anestésico (escala ASA I y II).
- Programados para la realización de Resonancia Magnética Cerebral bajo anestesia por cefalea.
- Los padres o tutores legales han sido convenientemente informados y aceptan y firman el consentimiento informado para participar en el estudio

### **5.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Antecedentes personales de enfermedad neurológica, hematológica, renal o hepática diagnosticadas o bien signos/síntomas/alteraciones analíticas sugerentes de las mismas.
- Antecedentes personales de tumor de partes blandas y/o cartílagos.
- Antecedentes personales de haber sufrido un traumatismo de alto impacto con afectación extensa de tejido musculoesquelético en los tres meses anteriores.
- Antecedentes personales de prematuridad
- Resonancia Magnética Nuclear de cráneo urgente, no programada.
- Resonancia Magnética Nuclear de cráneo informada por el radiólogo con hallazgos patológicos.
- Pacientes cuyos padres o tutores legales no autorizan o revocan la participación del menor en el estudio

## 6. INTERVENCIÓN CLÍNICA

### 6.1. EXPOSICIÓN A SEVOFLURANO

Todos los pacientes de la muestra recibieron el anestésico inhalado sevoflurano, concretamente la preparación comercial Sevorane® de laboratorios Abbvie, que se presenta como un líquido volátil en frascos de 250 ml. En la fase de inducción anestésica se administró una fracción inspirada de anestésico (Fia) alta, cercana al 8% del total del gas fresco y tras la pérdida de consciencia del paciente se redujo la Fia hasta el 2-3%, la cual se utiliza como dosis de mantenimiento hasta el final de la intervención. Con esta pauta de administración conseguimos una concentración alveolar mínima (CAM) entre 1.5 y 2, que es suficiente para lograr la inconsciencia e inmovilidad del paciente en todos los casos.

### 6.2. REALIZACIÓN DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR CRANEAL

Todos los pacientes de la muestra se sometieron a un estudio de resonancia magnética nuclear (RMN) craneal, bajo anestesia con sevoflurano. El aparato de RMN del que dispone el Hospital Universitario de Puerto Real es un modelo *MR Signa Horizon de 1,5 Tesla* de la casa *General Electrics® Healthcare* con número de serie GEHC MR HDxt Part Number 5370415-3.

### 6.3. DETERMINACIÓN DE S100 B EN SANGRE PRE Y POSTEXPOSICIÓN

La cuantificación de los niveles séricos de la proteína S100B se lleva a cabo mediante una técnica de inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA). Para ello las dos muestras sanguíneas, basal (muestra 1) y postexposición (muestra 2), han de ser

centrifugadas a 4.000 revoluciones por minuto durante 4 minutos. De este modo obtenemos suero que procesamos en el autoanalizador de *Roche Diagnostics MODULAR E-170*. Los valores de referencia en nuestro laboratorio son de 5-105 ng/L. Para facilitar la lectura de muchos de los artículos citados en la introducción y la discusión, recordamos las siguientes equivalencias:

1 nanogramo/litro [ng/l] = 1 picogramo/mililitro [pg/ml]

1 nanogramo/litro [ng/l] = 0,001 Microgramo por litro [µg/l]

## **7. DESCRIPCIÓN DEL CIRCUITO DEL PACIENTE DESDE QUE ENTRA A FORMAR PARTE DEL ESTUDIO HASTA SU SALIDA DEL MISMO.**

Detallamos a continuación el circuito que sigue el niño incluido en nuestro estudio, separado en diferentes fases o períodos relatados en orden cronológico.

### **7.1. VISITA EN LA CONSULTA DE PREANESTESIA. MUESTRA 1.**

Es este el momento en el que, tras la entrevista con los responsables y la exploración del paciente, se decide si cumple o no los criterios de inclusión. En caso afirmativo, se explica a los responsables la intención de este estudio, los objetivos, el procedimiento y las personas implicadas. Si aceptan la inclusión en él, se solicita la firma del consentimiento específico para este trabajo, del que se les entrega una copia y otra se archiva en la historia clínica del paciente. Se explica también a los padres o tutores que, en cualquier momento posterior, podrán rechazar o revocar dicha autorización. Tras abandonar la consulta de preanestesia, los pacientes deben dirigirse al laboratorio de bioquímica de este hospital, en el que se realiza

una extracción sanguínea para la valoración preanestésica habitual (hemograma, ionograma y función hepática y renal). En la misma muestra sanguínea se determina el nivel basal de la proteína S100 B.



Figura 85. Extracción de una muestra sanguínea para analítica.

## 7.2. RECEPCIÓN EN LA SALA DE PEDIATRÍA DE HOSPITAL DE DÍA QUIRÚRGICO.

El día citado para la prueba, el paciente ingresa en el Hospital De Día Quirúrgico. Se comprueban los datos de filiación y el ayuno. Si durante el tiempo que ha pasado desde la visita preanestésica hasta la cita para la RMN (habitualmente de 5 a 7 días) los representantes del paciente hubieran cambiado de parecer y no desearan formar parte de este trabajo, se les pediría que firmaran la revocación en el consentimiento y se excluiría al paciente del estudio. El niño y sus acompañantes esperaran su turno en una sala de uso pediátrico especialmente acondicionada para ellos. Es importante que el niño venga con ropa cómoda y sin accesorios metálicos. Si hiciera falta le sería proporcionado un pijama hospitalario infantil. En la sala disponen de juguetes y de un televisor donde reproducimos programas infantiles. Nuestra intención es disminuir el nivel de ansiedad basal con métodos no farmacológicos.



### 7.3. TRASLADO A LA SALA DE RMN SIEMPRE ACOMPAÑADO POR SU RESPONSABLE. LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR. MUESTRA 2.

Llegado su orden de cita, el paciente será trasladado por un celador y acompañado por uno de sus responsables a la sala de resonancia magnética nuclear (RMN). Cuando el anestesiólogo responsable de la realización de la prueba considere que está todo preparado, el paciente, junto con su responsable o en brazos de él si es un bebé, entrará en la sala de RMN. Tras la colocación de un pulsioxémetro Nonin N-7500 FO, comienza la fase de inducción anestésica aplicando sevoflurano al 8% a través de una mascarilla facial de tamaño adecuado a su cara, con circuito auxiliar tipo Mapleson C (Intersurgical®), hasta conseguir la inconsciencia (generalmente entre 20 y 30 segundos). En ese momento, el responsable abandona la sala y el paciente es colocado en decúbito supino. La Fia se disminuye al 2-3% y se mantendrá así mientras dure la prueba de imagen. Se procede a la canalización de una

vía periférica en el dorso de la mano o en la flexura del codo con un catéter *i.v* *BD® Insyte Autoguard BC 24-22 G*. El acceso venoso resultará imprescindible tanto para la administración de contraste (Gadolinio), en caso de que el radiólogo lo considerara oportuno, como para la administración de algún otro agente anestésico o medicación de urgencia, si fuese necesario. Una vez canalizada la vía venosa, aislaremos la vía aérea con un dispositivo supraglótico (mascarilla laríngea *Aura Gain® de Ambú*). Al finalizar la RMN, con un sistema de vacío *Vacujet*, se obtiene la segunda muestra sanguínea (2-4 ml) y se envía en un tubo de bioquímica al laboratorio. Esta será nuestra muestra 2 en la que determinaremos el nivel de proteína S100 B postexposición.



*Figura 86. Mascarilla laríngea Aura Gai de Ambú.*



Figura 87. Pulsioxímetro Nonin N-7500 FO.



Figura 88. Catéter i y BD Insyte Autoquard.

## 7.5. RECUPERACIÓN COMPLETA DEL NIVEL DE CONSCIENCIA EN LA UNIDAD DE RECUPERACIÓN POSTANESTÉSICA DEL ÁREA QUIRÚRGICA.

Una vez comprobemos que el niño mantiene una correcta saturación de oxígeno ( $\text{SatO}_2 > 92\%$ ) sin necesidad de ningún tipo de soporte respiratorio y con el paciente en respiración espontánea, lo trasladaremos a la Unidad de Recuperación Postanestésica (URP) en cama o en cuna, siempre acompañado por un responsable. Allí permanecerá el tiempo

necesario para asegurarnos de que ha recuperado todos sus reflejos protectores de la vía aérea y que sus constantes básicas son normales.

## **7.6. ADAPTACIÓN AL MEDIO EN LA SALA DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL DE DÍA QUIRÚRGICO.**

La última etapa del circuito es su vuelta al Hospital De Día Quirúrgico. Aquí continuará su recuperación postanestesia e iniciará tolerancia digestiva. Cuando el niño presente un nivel de actividad similar al de su ingreso y siempre que no haya ocurrido ningún evento adverso, se procederá al alta a domicilio. En ese momento se retirará la vía venosa periférica.

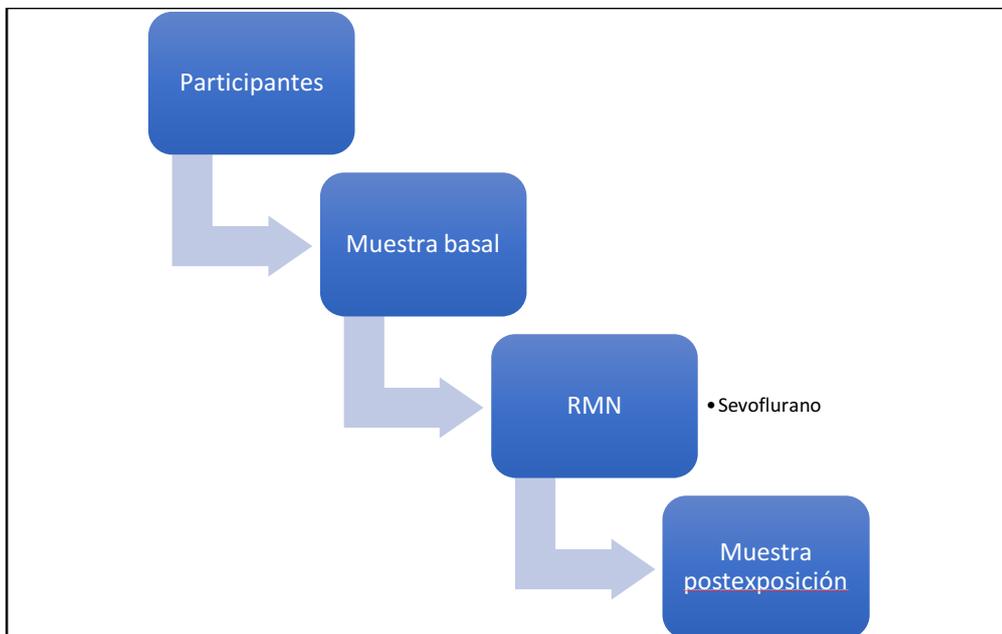
## **7.7. ALTA A DOMICILIO CON HOJA DE INSTRUCCIONES AL ALTA.**

En este documento se explica que el paciente ha sido sometido a una prueba diagnóstica bajo anestesia general y que la misma ha transcurrido sin incidencias. Se refleja que, en caso de necesitar alguna asistencia médica, en el día de la intervención no dude en acudir al servicio de Urgencias del HUPR, presentando dicho documento.

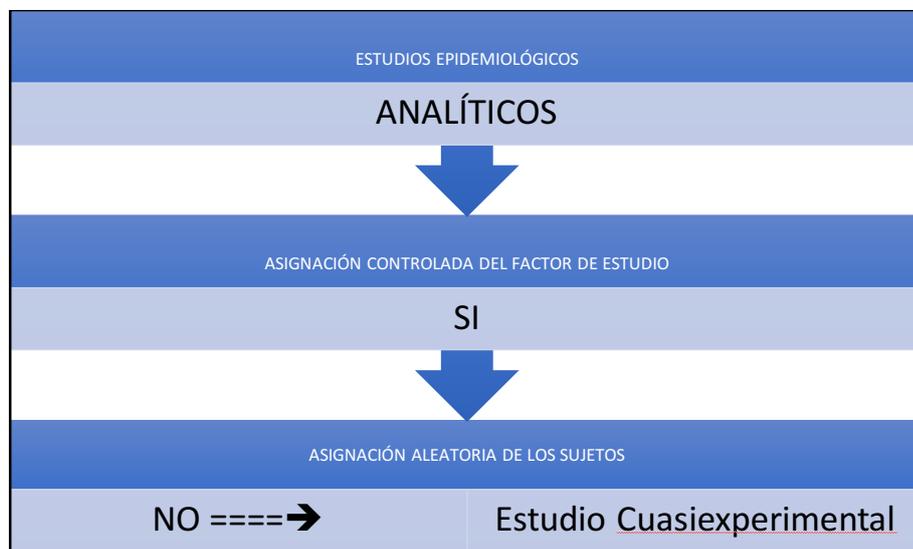
## 8. MANEJO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Este proyecto ha sido diseñado como un *estudio analítico cuasiexperimental*. La gran diferencia con respecto a los estudios experimentales es la no aleatorización de la muestra, es decir, que los sujetos no han sido elegidos al azar. Nuestra muestra fue seleccionada de manera prospectiva del conjunto de pacientes pediátricos programados para realización de resonancia magnética nuclear de cráneo en el ámbito asistencial del Hospital Universitario de Puerto Real.

Dentro de los diferentes estudios cuasiexperimentales, el nuestro corresponde a un *ensayo antes-después*. En este tipo de estudios la variable principal se mide después de la intervención y se compara con su nivel basal. El proyecto fue diseñado de tal modo que obtuviéramos una medición de la proteína sérica S100B previa a la realización de la resonancia magnética nuclear bajo anestesia y una segunda muestra inmediatamente al finalizar la misma, con el paciente aún inconsciente.



La gran limitación de esta modalidad de estudios es la de no disponer de un grupo control. Entendemos que los estudios experimentales con grupo control alcanzarían el nivel de fiabilidad ideal, pero en nuestro proyecto resulta imposible disponer de un grupo de pacientes pediátricos sometidos a resonancia magnética nuclear de cráneo sin sedación. Los estudios cuasiexperimentales permiten inferir una relación causal entre las variables independientes y la dependiente y, para minimizar los sesgos, seleccionamos a todos los pacientes cumpliendo estrictamente los criterios de inclusión y de exclusión, homogeneizando en lo posible la muestra.



Se empleó el programa Microsoft Excell para construir una tabla donde recoger todos los datos. Se utilizó el programa MEDCALC para el procesamiento de datos y la obtención de resultados. Se consideró la existencia de significación estadística cuando la  $p < 0,05$ , es decir, cuando la probabilidad de que el efecto obtenido fuese debido al azar es inferior al 5%.

## 8.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.

La estadística descriptiva es la rama de las Matemáticas que recolecta, organiza, presenta y caracteriza un conjunto de datos con el fin de describir apropiadamente las diversas características de ese conjunto. En nuestra muestra poblacional las características (o “variables”) consideradas son las siguientes:

### 8.1.1. VARIABLE DEPENDIENTE: PROTEÍNA S100B

Es la variable que deseamos estudiar (*variable de respuesta*), de tipo cuantitativa continua. Su nivel en sangre (S100 B sérica) se cuantifica en nanogramos por litro (ng/l).

En la introducción hemos analizado y constatado el valor de la proteína S100B como marcador de daño cerebral en diferentes situaciones clínicas.

Por ello, en nuestra hipótesis de trabajo planteamos que, si la exposición a anestésicos produce un daño cerebral, éste podría ser medido determinando la proteína S100B sérica antes y después de la exposición a dicho fármaco.

### 8.1.2. VARIABLES INDEPENDIENTES:

Las variables independientes son también conocidas como *Factores de Estudio*. Estas variables intentan explicar el comportamiento de la variable dependiente. En algunos trabajos se las denomina también *variables explicativas*.

En nuestra muestra son las siguientes:

EDAD. Variable cuantitativa continua (rango de 0 a 15 años). Con respecto a la edad, tenemos

que destacar dos aspectos importantes: por un lado, como hemos mencionado en la introducción de este trabajo, los niveles de proteína S100B en sangre pueden sufrir variaciones en función de la edad; por el otro, estudios en animales demuestran que existen edades de máxima vulnerabilidad cerebral, coincidiendo con fases de intensa actividad sinaptogénica cerebral. Aplicaremos los test estadísticos oportunos para comprobar la dependencia o no de las cifras de proteína S100B con la edad.

**GÉNERO.** Variable cualitativa dicotómica (masculino o femenino). En nuestra muestra hemos incluido pacientes de ambos géneros, y, al igual que para la variable edad, utilizaremos las herramientas estadísticas adecuadas para descartar la dependencia de la variable género con la variable de estudio. Los datos consultados de trabajos anteriores establecen independencia entre estos dos factores, pero pretendemos comprobarlo en nuestra muestra.

**DURACIÓN DE LA EXPOSICIÓN.** Variable cuantitativa continua (en minutos). Basándonos en los estudios animales revisados para este trabajo, la duración de la exposición a los anestésicos se correlaciona con el daño cerebral, medido éste mediante la cuantificación de la actividad de la caspasa 3 en cortes histológicos de cerebro de los animales expuestos. Los trabajos que hablan del doble efecto neurotóxico/neuroprotector de los anestésicos inhalados relacionan el primero con exposiciones “prolongadas” y el segundo con “cortas”, habiéndose establecido el punto de corte entre ambas, según datos muy preliminares, en aproximadamente dos horas.

En un trabajo anterior llevado a cabo por nuestro grupo en niños anestesiados para cirugía con un cóctel de agentes anestésicos intravenosos e inhalados, se obtuvo una correlación débil, pero inversa, entre la duración de la exposición y los niveles plasmáticos de proteína S100B. Dar explicación a este hallazgo resultó ciertamente difícil, pero contemplamos la hipótesis de que se produjera un pico de neuroapoptosis al inicio de la exposición anestésica, coincidiendo con la administración intravenosa en

bolo de diferentes fármacos hipnóticos (sevoflurano + propofol) y analgésicos (fentanilo) y, posteriormente, una disminución de la toxicidad al mantener al paciente exclusivamente con sevoflurano.

La duración del mantenimiento anestésico en nuestra muestra osciló entre 20 y 45 minutos (mediana 27 minutos), si bien estos datos no proceden del total de la muestra sino de solo una parte de ella. Aunque podemos considerar al procedimiento como una exposición “corta”, carecemos del dato exacto de la duración de la intervención en el total de los pacientes y, por ello, no hemos podido analizar la influencia que hubiese podido ejercer sobre la variable proteína S100 B en sangre, lo cual es una debilidad de nuestro trabajo que aquí reseñamos.

Los parámetros estadísticos que empleamos en relación a las *variables cualitativas* son las frecuencias absolutas, representándolas con diagramas de rectángulos. La base de estos rectángulos es constante y la altura es proporcional a la frecuencia absoluta de la variable. Gracias a esta herramienta facilitamos un análisis visual de los datos.

Los parámetros que empleamos para caracterizar las *variables cuantitativas* son, como medidas de centralización, la media aritmética y la mediana (de especial interés en nuestro caso esta última por tratarse de un tamaño muestral pequeño) y, como medidas de dispersión, la desviación estándar y el rango intercuartílico.

## 8.2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

Una vez que hemos recogido y analizado los datos de nuestra muestra para obtener conclusiones sobre la misma, la estadística inferencial, mediante sus pruebas de significación estadística, nos permitirá inferir dichas conclusiones desde la muestra a la población general. Ya que desconocemos *a priori* el comportamiento de nuestra variable en la población y puesto

que la muestra es pequeña, las pruebas de significación estadística más adecuadas para nuestro trabajo son aquellas que denominamos no paramétricas. De las diferentes opciones dentro de este grupo seleccionamos el *Test de D'Agostino-Pearson* para conocer la distribución teórica de nuestras variables a estudio, si son de tipo normal (gaussiana) o no, obteniendo que siguen una distribución no normal o no gaussiana.

Conocida la distribución de las muestras se aplican los tests de contraste de hipótesis y de correlación estadística.

### 8.2.1. TEST DE CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Para el análisis estadístico de nuestros datos planteamos dos hipótesis y las contrastamos:

*Hipótesis nula* ( $H_0$ ): no existen diferencias entre el *antes* y el *después* (no existen diferencias entre la S100Bb y la S100 Bp)

*Hipótesis alternativa* ( $H_1$ ): existen diferencias entre el *antes* y el *después* (existen diferencias entre la S100Bb y la S100Bp).

Estas dos hipótesis se excluyen mutuamente.

Debido a que nuestros datos son apareados, es decir, que proceden de los mismos sujetos en momentos diferentes, "antes y después", y siguen una distribución no gaussiana, empleamos para el contraste de hipótesis el *Test de Wilcoxon*. Fijamos previamente un nivel de probabilidad máxima de que los resultados observados sean debidos al azar en un 5%. De esta forma, si al aplicar el test de Wilcoxon estadístico obtenemos  $p < 0.05$ , consideramos que las diferencias obtenidas no son debidas al azar, aceptando  $H_1$  y rechazando  $H_0$ .

### 8.2.2. TEST DE CORRELACIÓN ESTADÍSTICA

El análisis de correlación estadística entre dos variables analiza el grado de asociación que existe entre las mismas. Se expresa mediante un único valor llamado coeficiente de correlación ( $r$ ). Para las variables con distribución normal empleamos el coeficiente de correlación de Pearson y para las variables con distribución no normal el test de Rho de Spearman. El valor del coeficiente de correlación varía entre -1 y +1:

- Si es -1, es decir, si  $r = -1$ , hay una correlación negativa perfecta.
- Si se encuentra entre -1 y -0.5, es decir, si  $-1 < r < -0.5$ , hay una fuerte correlación negativa.
- Si  $r$  se encuentra entre -0.5 y 0, es decir, si  $-0.5 < r < 0$ , hay una débil correlación negativa.
- Cuando es 0, es decir, si  $r = 0$ , no hay correlación, aceptando la hipótesis nula.
- Cuando se encuentra entre 0 y 0.5, es decir, si  $0 < r < 0.5$ , hay una débil correlación positiva.
- Y, si está entre 0.5 y 1, es decir, si  $0.5 < r < 1$ , hay una fuerte correlación positiva.
- Por último, si es 1, es decir, si  $r = 1$ , hay una correlación positiva perfecta.

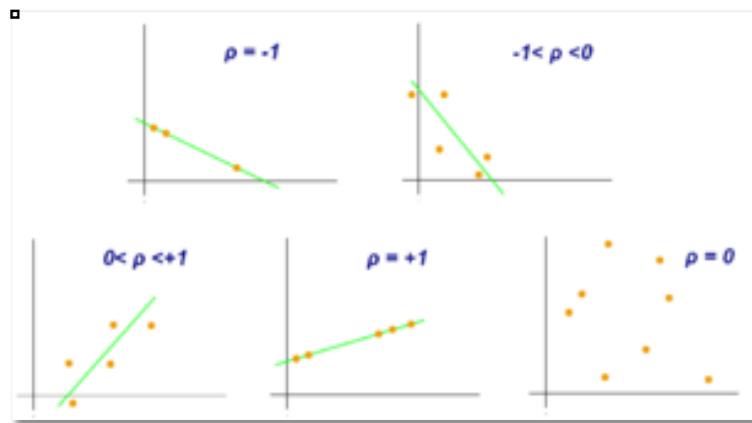


FIGURA 89. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN.



# **V . RESULTADOS**

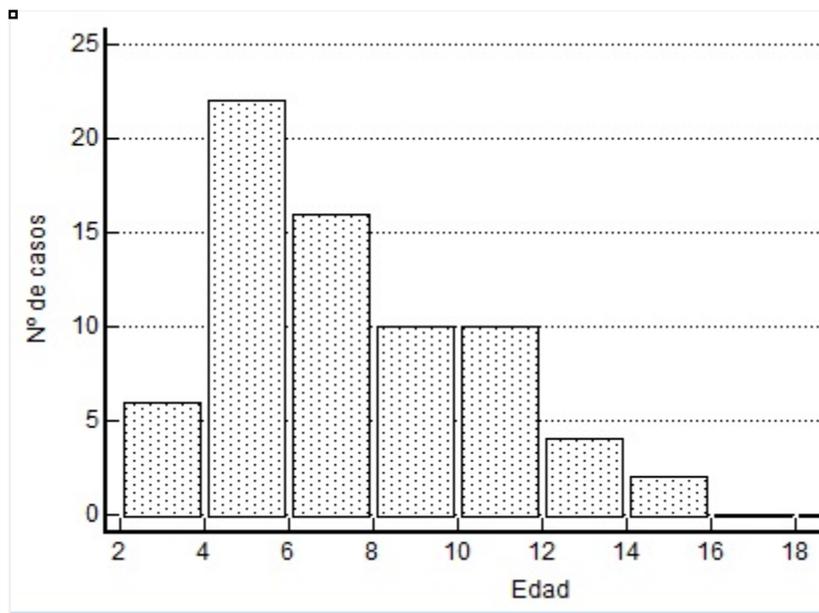


- \* Se incluyeron un total de 72 pacientes, de los cuales 42 son niños y 30 son niñas, con edades comprendidas entre 2 y 13 años (mediana: 7,3 años).
- \* Todas las variables estudiadas siguieron una distribución no gaussiana al aplicárseles el test D'Agostino-Pearson.
- \* Mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre niños y niñas (género) con los valores de la concentración de la proteína S100B sérica de la muestra basal (S100Bb) ni con los valores de la muestra postexposición (S100Bp).
- \* Mediante el análisis del coeficiente del rango de correlación Rho de Spearman no hubo correlación significativa entre la edad de los pacientes y los valores de S100Bb ni de S100Bp ( $p > 0,05$ ).
- \* En 58 pacientes (80.56% de los casos) los niveles séricos de proteína S100B postexposición disminuyeron tras la anestesia general; en 14 casos se produjo un ascenso; y en 2 no hubo variación antes-después. La mediana obtenida de los valores de S100Bp (66.5 ng/L) fue menor a la de los valores de S100Bb (84 pg/mL).
- \* Aplicando a las dos muestras el coeficiente de correlación de Spearman obtenemos un valor  $r$  de 0.803 (con una  $p < 0.005$ ), por lo que existe relación positiva fuerte entre los valores de S100 Bb y los de S100Bp.
- \* Aplicando a las dos medianas el test de Wilcoxon para datos apareados, encontramos diferencias estadísticamente significativas entre S100Bb y S100Bp ( $p < 0,0001$ ).

# 1. ESTADISTICA DESCRIPTIVA

## 1.1. EDAD Y GÉNERO

	NIÑAS	NIÑOS	TOTAL
Mínima	2	3	2
Máxima	13	11	13
Mediana	6.93 (IC 95% 5.25-8.16)	7.68 (IC 95% 5.85-9.50)	7.36 (IC 95% 6.14-8.58)



Grupo general:

Sample size = 72

Lowest value = 2,0000

Highest value = 13,0000

Arithmetic mean = 7,3684

95% CI for the mean = 6,1471 to 8,5897

Median = 6,0000

(95% CI for the median = 5,0000 to 9,0000)

Variance = 13,8065

Standard deviation = 3,7157

Relative standard deviation = 0,5043 (50,43%)

Standard error of the mean = 0,6028

Coefficient of Skewness = 1,3177 (P = 0,0021)

Coefficient of Kurtosis = 2,3163 (P = 0,0269)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P = 0,0008)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = 5,0000 (4,0000 to 6,0000)

75 = 9,0000 (7,0000 to 11,2735)

---

Subgroup: S = 0; girls (NIÑAS)

Sample size = 30

Lowest value = 2,0000

Highest value = 13,0000

Arithmetic mean = 6,9375

(95% CI for the mean = 5,2584 to 8,6166)

Median = 6,0000

(95% CI for the median = 4,9534 to 9,0932)

Variance = 9,9292

Standard deviation = 3,1511

Relative standard deviation = 0,4542 (45,42%)

Standard error of the mean = 0,7878

Coefficient of Skewness = 0,5624 (P = 0,3008)

Coefficient of Kurtosis = -0,5443 (P = 0,4766)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: accept Normality (P = 0,4544)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = 5,0000 (2,3747 to 7,0000)

75 = 9,0000 (5,0000 to 12,8127)

Subgroup: S = 1; boys (NIÑOS)

Sample size = 42

Lowest value = 3,0000

Highest value = 13,0000

Arithmetic mean = 7,6818

95% CI for the mean = 5,8543 to 9,5093

Median = 6,0000

(95% CI for the median= 5,0000 to 9,7855)

Variance = 16,9892

Standard deviation = 4,1218

Relative standard deviation = 0,5366 (53,66%)

Standard error of the mean = 0,8788

Coefficient of Skewness = 1,4933 (P = 0,0054)

Coefficient of Kurtosis = 2,6307 (P = 0,0383)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P = 0,0024)

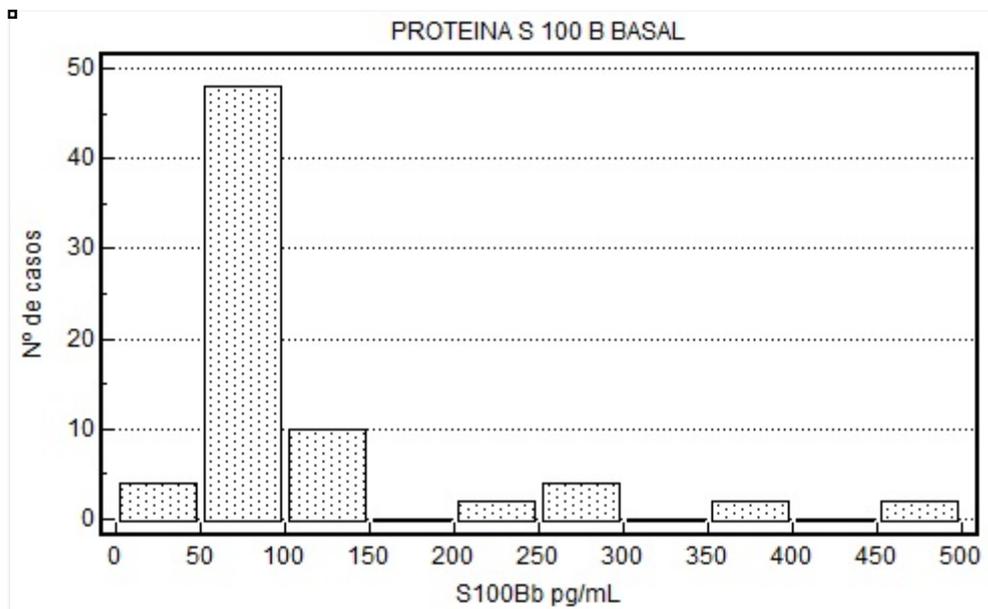
Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = 5,0000 (3,0503 to 6,0000)

75 = 10,0000 (6,0000 to 14,7986)

## 1.2. PROTEÍNA S100B BASAL

	NIÑAS	NIÑOS	TOTAL
Mínimo	30	35	30
Máximo	296	453	453
Mediana	74.5 (IC 95% 57.0-118)	86.5 (IC 95% 73.8-106)	84 (IC 95% 71.3-98.0)



Grupo general:

Sample size = 72

Lowest value = 30,0000

Highest value = 453,0000

Arithmetic mean = 111,5789

95% CI for the mean = 82,0294 to 141,1285

Median = 84,0000

(95% CI for the median 71,3732 to 98,0000)

Variance = 8082,0882

Standard deviation = 89,9004

Relative standard deviation = 0,8057 (80,57%)

Standard error of the mean =14,5838

Coefficient of Skewness = 2,4891 (P<0,0001)

Coefficient of Kurtosis = 6,2095 (P=0,0004)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P<0,0001)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25= 67,0000 (57,0000 to 77,0000)

75 = 108,0000 (89,0000 to 229,9391)

-----

Subgroup: S = 0 (NIÑAS)

Sample size = 30

Lowest value = 30,0000

Highest value = 296,0000

Arithmetic mean = 91,6250

95% CI for the mean = 58,8389 to 124,4111

Median = 74,5000

(95% CI for the median = 57,0000 to 118,2329)

Variance = 3785,7167

Standard deviation = 61,5282

Relative standard deviation = 0,6715 (67,15%)

Standard error of the mean = 15,3820

Coefficient of Skewness = 2,6418 (P = 0,0001)

Coefficient of Kurtosis = 8,6274 (P = 0,0005)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P<0,0001)

Percentiles ( 95% Confidence Interval)

25 = 57,5000 (31,8735 to 81,5530)

75 = 108,0000 (70,1029 to 263,9632)

-----  
Subgroup: S = 1 (NIÑOS)

Sample size = 42

Lowest value = 35,0000

Highest value = 453,0000

Arithmetic mean = 126,0909

(95% CI for the mean = 79,5644 to 172,6174)

Median = 86,5000

(95% CI for the median = 73,8578 to 106,9277)

Variance = 11011,8009

Standard deviation = 104,9371

Relative standard deviation = 0,8322 (83,22%)

Standard error of the mean = 22,3727

Coefficient of Skewness = 2,2080 (P = 0,0002)

Coefficient of Kurtosis = 4,3978 (P = 0,0067)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P<0,0001)

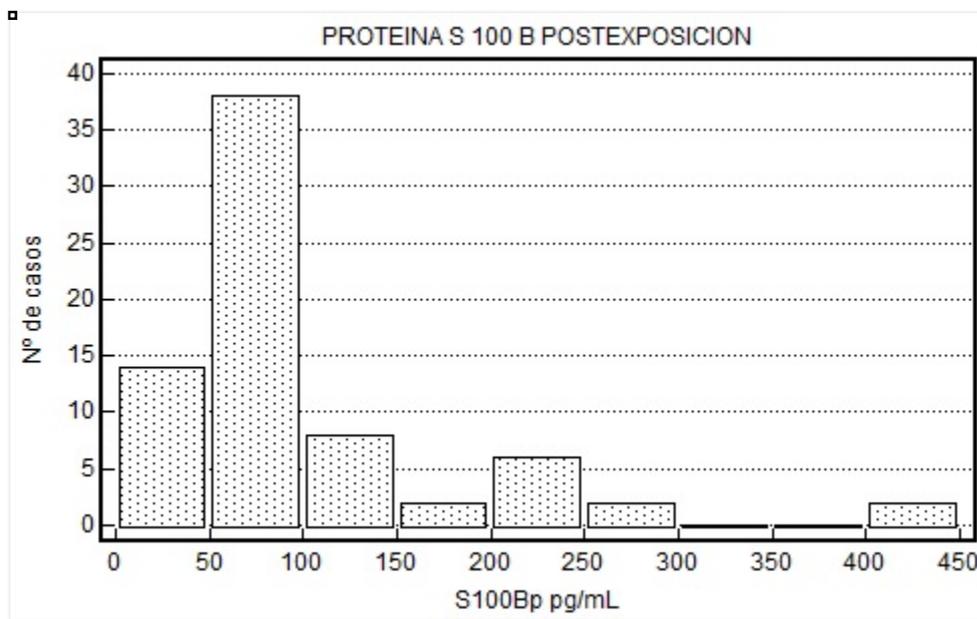
Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = 73,0000 (60,0503 to 86,5653)

75 = 108,0000 (86,4347 to 356,8146)

### 1.3 PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN

	NIÑAS	NIÑOS	TOTAL
Mínimo	28	27	27
Máximo	266	424	424
Mediana	63.5 (IC 95% 40.9-144)	72.0 (IC 95% 55.7-104)	69 (IC 95% 57.0-97.0)



Grupo general:

Sample size = 72

Lowest value = 27,0000

Highest value = 424,0000

Arithmetic mean = 103,1053

(95% CI for the mean = 75,4119 to 130,7987)

Median = 69,0000

(95% CI for the median= 57,0000 to 97,0148)

Variance = 7098,6373

Standard deviation = 84,2534

Relative standard deviation = 0,8172 (81,72%)

Standard error of the mean = 13,6677

Coefficient of Skewness = 2,0752 (P<0,0001)

Coefficient of Kurtosis = 4,8303 (P = 0,0014)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P<0,0001)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = 54,0000 (38,9061 to 65,3575)

75 = 119,0000 (78,3213 to 218,392)

-----  
Subgroup: S = 0 (NIÑAS)

Sample size = 30

Lowest value = 28,0000

Highest value = 266,0000

Arithmetic mean = 101,8125

95% CI for the mean = 60,8543 to 142,7707

Median = 63,5000

95% CI for the median = 40,9534 to 144,9345

Variance = 5908,1625

Standard deviation = 76,8646

Relative standard deviation = 0,7550 (75,50%)

Standard error of the mean = 19,2161

Coefficient of Skewness = 1,1828 (P = 0,0401)

Coefficient of Kurtosis = 0,2077 (P = 0,6704)

D'Agostino-Pearson test

for Normal distribution: accept Normality (P = 0,1110)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = 47,5000            29,3114 to 70,5530

75 = 38,5000            59,4823 to 262,2530

Subgroup: S = 1 (NIÑOS)

Sample size = 42

Lowest value = 27,0000

Highest value = 424,0000

Arithmetic mean = 104,0455

95% CI for the mean = 63,6890 to 144,4019

Median = 72,0000

95% CI for the median = 55,7156 to 104,5687

Variance = 8284,8074

Standard deviation = 91,0209

Relative standard deviation = 0,8748 (87,48%)

Standard error of the mean = 19,4057

Coefficient of Skewness = 2,5221 (P=0,0001)

Coefficient of Kurtosis = 7,0033 (P=0,0008)

D'Agostino-Pearson test

for Normal distribution: reject Normality (P<0,0001)

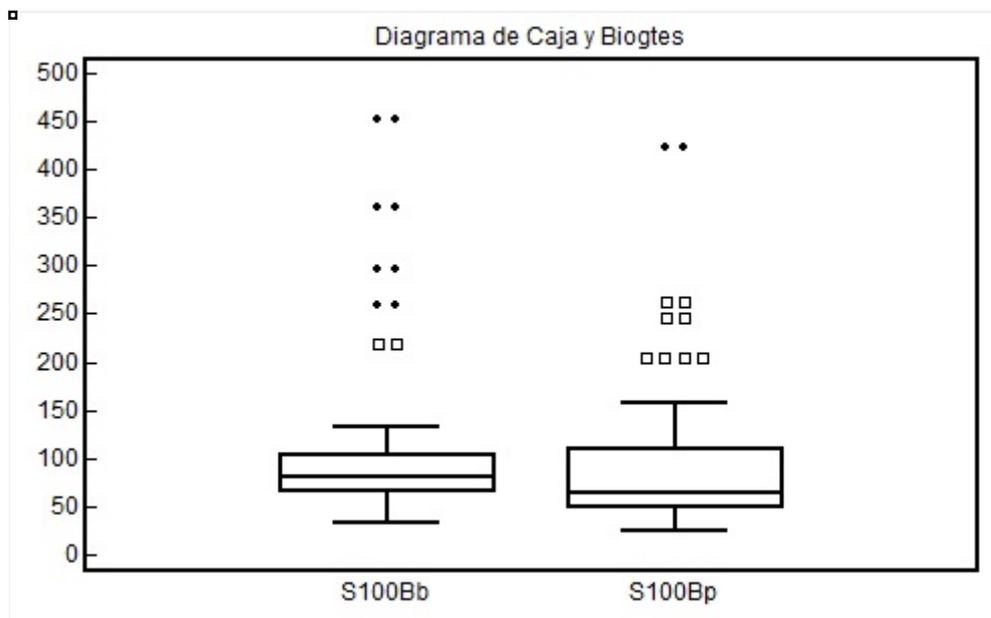
Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = 54,0000      36,4028 to 72,0435

75 = 108,0000      71,9565 to 260,2311

## 1.4. VARIACIÓN PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN VS BASAL (S100B P-B)

	NIÑAS	NIÑOS	TOTAL
Mínimo	-50.0	-190	-190
Máximo	148	62.0	148
Mediana	-10.5 (IC 95% -28.0 , 70,4)	-11.0 (IC 95% -33.5 , 1.21)	-11 (IC 95% -24.2 , -4.05)



Grupo general:

Sample size = 72

Lowest value = -190,0000

Highest value = 148,0000

Arithmetic mean = -8,4737

(95% CI for the mean = -26,4136 to 9,4663)

Median = -11,0000

(95% CI for the median = -24,2537 to -4,0597)

Variance = 2978,9587

Standard deviation = 54,5798

Relative standard deviation = -6,4411 (-644,11%)

Standard error of the mean = 8,8540

Coefficient of Skewness = -0,0315 (P = 0,9306)

Coefficient of Kurtosis = 4,1148 (P = 0,0030)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P = 0,0122)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = -29,0000 (-45,6409 to -15,1606)

75 = 0,0000 (-9,6787 to 64,1878)

Subgroup: S = 0 (NIÑAS)

Sample size = 30

Lowest value = -50,0000

Highest value = 148,0000

Arithmetic mean = 10,1875

(95% CI for the mean = -20,5325 to 40,9075)

Median = -10,5000

(95% CI for the median = -28,0466 to 70,4658)

Variance = 3323,6292

Standard deviation = 57,6509

Relative standard deviation = 5,6590 (565,90%)

Standard error of the mean = 14,4127

Coefficient of Skewness = 1,3704 (P=0,0200)

Coefficient of Kurtosis = 0,8512 (P=0,3458)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P = 0,0428)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = -25,5000 (-48,3139 to -8,8618)

75 = 35,0000 (-12,8971 to 139,9440)

Subgroup: S = 1 (NIÑOS)

Sample size = 42

Lowest value = -190,0000

Highest value = 62,0000

Arithmetic mean = -22,0455

(95% CI for the mean = -43,8401 to -0,2508)

Median = -11,0000

(95% CI for the median = -33,5711 to -1,2145)

Variance = 2416,3312

Standard deviation = 49,1562

Relative standard deviation = -2,2298 (-222,98%)

Standard error of the mean = 10,4801

Coefficient of Skewness = -1,9405 (P = 0,0007)

Coefficient of Kurtosis = 6,2270 (P = 0,0015)

D'Agostino-Pearson test for Normal distribution: reject Normality (P<0,0001)

Percentiles (95% Confidence Interval)

25 = -34,0000 (-97,5332 to -11,0000)

75 = -1,0000 (-11,0000 to 24,7483)

## 2. TEST DE CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES (RHO DE SPEARMAN)

### 2.1 EDAD Y PROTEÍNA S100B BASAL

Variable Y: E

Variable X: S100b

Sample size = 72

Spearman's coefficient of rank correlation (rho) = -0,047 (p = 0,7728)

(95% Confidence Interval for rho = -0,362 to 0,276)

### 2.2 EDAD Y PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN

Variable Y: E

Variable X: S100p

Sample size= 72

Spearman's coefficient of rank correlation (rho) = -0,162 (p = 0,3242)

(95% Confidence Interval for rho = -0,458 to 0,166)

### 2.3 PROTEÍNA S100B BASAL Y PROTEÍNA S100B POSTEXPOSICIÓN

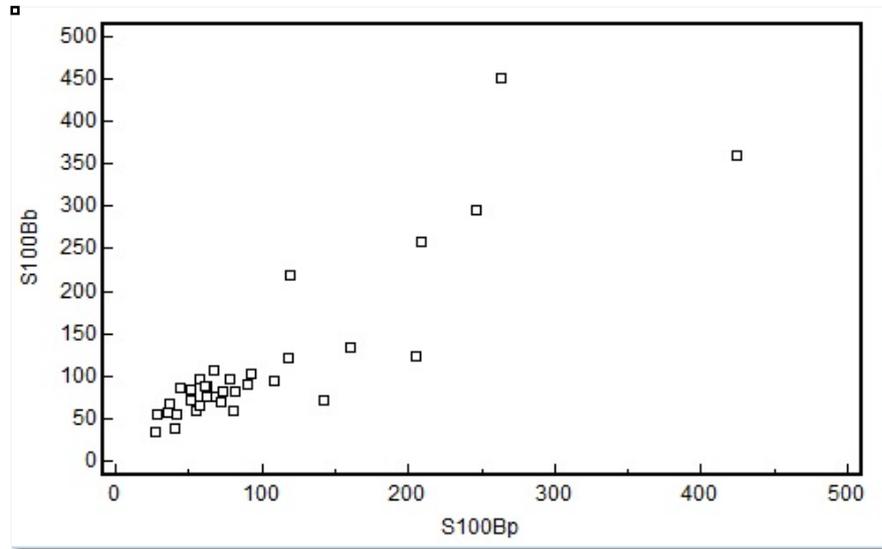
Variable Y: S100b

Variable X: S100p

Sample size = 72

**Spearman's coefficient of rank correlation (rho) = 0,803 P<0,0001**

**(95% Confidence Interval for rho = 0,701 to 0,872)**



### 3. TEST DE ASOCIACIÓN (WILCOXON PARA MUESTRAS APAREADAS)

#### Sample 1

##### Variable: S100Bb

Sample size = 72

Lowest value = 35,0000

Highest value = 453,0000

Median = 84,0000

95% CI for the median =77,0000 to 91,0000

---

#### Sample 2

##### Variable: S100Bp

Sample size = 72

Lowest value = 27,0000

Highest value = 424,0000

Median = 66,5000

95% CI for the median = 610000 to 80,0000

Wilcoxon test (paired samples)

Number of positive differences = 56

Number of negative differences = 14

**Large sample test statistic Z = -3,871219**

**Two-tailed probability P = 0,0001**



# **VI. DISCUSIÓN**



## 1. DISCUSIÓN

### 1.1. EFECTOS DE LOS ANESTÉSICOS INHALADOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL: ¿NEUROTOXICIDAD O NEUROPROTECCIÓN? ¿DÓNDE ESTAMOS?

La posibilidad de que la anestesia general provoque neurotoxicidad en los cerebros de animales en desarrollo ha originado desconcierto y dudas tanto en el colectivo de anesthesiólogos pediátricos como en los padres y madres de los pacientes pediátricos. La “seguridad” de la anestesia se ha puesto en discusión. Los estudios en animales son muy numerosos y ciertamente alarmantes. No obstante, carecemos en la actualidad de estudios clínicos en humanos que evidencien esa neurotoxicidad desde un punto de vista de constatación “daño al tejido nervioso”, tipo neuroapoptosis o neurodegeneración. Por otro lado, los estudios clínicos que tratan de investigar posibles efectos clínicos de esa toxicidad sobre las funciones del sistema nervioso central están actualmente en fase de desarrollo o bien arrojan resultados contradictorios.<sup>189 190</sup>

Sin duda es muy relevante que varios grupos de investigación hayan demostrado en animales cómo la exposición a agentes anestésicos durante etapas tempranas del desarrollo cerebral, coincidiendo con picos de sinaptogénesis, acelera la pérdida de sinapsis en diferentes regiones del cerebro y contemplar las muestras de tejidos cerebrales dañados nos genera una gran preocupación.<sup>191</sup>

Sin embargo, debemos considerar dos importantes aspectos cuando profundizamos en la lectura de los estudios llevados a cabo en modelos preclínicos. El primero de ellos es que, a pesar de que los fármacos anestésicos empleados en los estudios relacionados con la neurotoxicidad en animales son los mismos que los utilizados en

humanos, la dosis total administrada y la duración de la exposición al agente anestésico en general es bastante diferente a los habituales en la práctica médica diaria. El segundo aspecto a tener en cuenta es que no disponemos de un modelo exacto para extrapolar la edad de los animales expuestos con la edad de los pacientes pediátricos; por ejemplo, la madurez cerebral en fetos de mono a la edad gestacional de 120 días (intraútero) se correlaciona en modelos animales con cerebros humanos de 7 días de vida postnatal. Pero, realmente, desconocemos si los períodos de sinaptogénesis en animales coinciden con los de humanos, por lo que no podemos asegurar que el impacto recibido por los cerebros en desarrollo de los animales de experimentación sea el mismo que el de los niños expuestos a anestesia general.

Aunque no disponemos a día de hoy de ensayos clínicos en humanos, con tamaños muestrales apropiados, diseñados para estudiar los efectos neuroprotectores de los anestésicos inhalados, sí tenemos resultados de otro tipo de trabajos experimentales de menor validez realizados en pacientes en diferentes contextos clínicos.

Ya en el año 1987 apareció una publicación en *Anesthesiology* que analizaba retrospectivamente a 2010 pacientes intervenidos de endarterectomía carotídea bajo anestesia general. Los pacientes fueron anestesiados con halotano o con isoflurano inhalados. En ambos grupos se monitorizó el flujo sanguíneo cerebral (FSC) y la actividad eléctrica cerebral mediante electroencefalograma (EEG). Aquellos pacientes en los que se empleó isoflurano el EEG evidenció menos daño isquémico, lo cual consideraron los autores secundario a un menor descenso del FSC.<sup>192</sup>

Unos años más tarde, en 1998, se publicó un trabajo en la revista *Neurosurgery* con un pequeño tamaño muestral de solo 20 pacientes, que se sometieron a una craneotomía bajo anestesia general con desflurano. Durante la oclusión de la arteria cerebral, 10 pacientes recibieron tiopental y otros 10 continuaron con desflurano a dosis más elevadas. Se monitorizó el EEG en busca de patrones de brote-supresión, indicativos de sufrimiento cerebral. Cuando éste apareció, se midió la saturación cerebral de oxígeno. El grupo de 10 pacientes

anestesiados con desflurano mantuvieron mejores niveles de saturación cerebral de oxígeno.

193

En el año 2004, un grupo de anestesiistas y cirujanos cardíacos de la ciudad de Ankara (Turquía) analizaron 137 pacientes intervenidos de by-pass aortocoronario y anestesiados, bien con propofol intravenoso, bien con agentes inhalados (isoflurano o sevoflurano). Publicaron sus resultados en los que se evidencia una menor elevación de la proteína S100B y un mejor resultado neurológico en el grupo anestesiado con agentes halogenados.<sup>194</sup>

Un grupo de trabajo de la Universidad de Medicina de New Jersey, en el año 2007, llevó a cabo un trabajo en 101 pacientes también intervenidos de by-pass aortocoronario. La muestra se dividió aleatoriamente en dos grupos: uno recibió sevoflurano como anestésico y el otro isoflurano. Se evaluó a los pacientes mediante varios test neurocognitivos (Mini-Mental Status Examination, Memory Recall Test, and Observer Assessment of Anxiety and Sedation scales) preoperatoriamente, inmediatamente tras la extubación y a los 90 minutos, 12 y 24 horas. El grupo de pacientes anestesiados con sevoflurano obtuvo un mejor puntaje en los test realizados.<sup>195</sup>

En el mismo sentido, un grupo de trabajo de la Universidad de Luebeck, en Alemania, en el año 2011, evaluó la posible disfunción cognitiva en 128 pacientes sometidos a cirugía cardíaca y que fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos, uno anestesiado con propofol intravenoso y otro con sevoflurano inhalado. Los tests empleados fueron el Mental Test, Stroop Test, Trail-Making Test y Word Lists. Estas evaluaciones se realizaron a los 2, 4 y 6 días tras la intervención. Los resultados en el grupo de pacientes anestesiados con sevoflurano fueron significativamente mejores que los del grupo del propofol.<sup>196</sup>

En el año 2012 otro grupo de trabajo, de la Universidad de Lublin, en Polonia, preocupados por los desórdenes neuropsicológicos en los pacientes intervenidos de cirugía cardíaca y el posible daño cerebral asociado, diseñó un trabajo en 92 pacientes adultos sometidos a cirugía de by-pass cardíaco. Se aleatorizaron en tres grupos: el grupo cero no

recibió ningún agente anestésico volátil durante la intervención, al grupo ISO se le administró isoflorano y al grupo SEV sevoflurano. Se midieron en sangre a todos los pacientes los niveles de magnesio, la metaloproteinasa 9 (MMP-9) y la proteína acídica fibrilar glial (GFAP), todos ellos indicadores bioquímicos de daño celular. De los 3 grupos, los niveles plasmáticos de los tres marcadores fueron significativamente más elevados en el grupo que no había recibido ningún agente anestésico volátil (grupo cero).<sup>197</sup>

Las grandes contribuciones acerca de la posible neurotoxicidad de los anestésicos volátiles, fuera del contexto de la cirugía cardíaca o vascular cerebral, han surgido de la exploración de la posible relación entre dicha exposición y la aparición de deterioro cognitivo postoperatorio (DCPO), enfermedad de Alzheimer (EA) o déficits en aprendizaje y memoria en niños.

Con respecto al DCPO ninguno de los trabajos consiguió demostrar que esta patología tuviera relación directa con la anestesia general, pues aparecía de igual manera en pacientes intervenidos bajo anestesia regional.<sup>198</sup>

Con respecto a la génesis de la EA y su relación con la exposición anestésica, ningún estudio con casos y controles ha conseguido demostrar evidencias directas acerca de esta contribución. Uno de los trabajos, retrospectivo, con 252 pacientes, analizó ancianos con EA que habían sido anestesiados entre 1 y 6 veces y no consiguió demostrar ninguna relación entre los minutos acumulados de anestesia y el posterior desarrollo de la demencia.<sup>199</sup>

Sin embargo, algunos grupos de investigación han tratado de estudiar los efectos de la exposición a anestesia general en una etapa temprana de la vida y, en este subgrupo poblacional, concretamente en niños expuestos a anestesia general a edades inferiores a los 4 años, algunos estudios han demostrado un aumento en el riesgo de sufrir discapacidad en el aprendizaje.<sup>200</sup>

Otros trabajos, no obstante, no consiguieron demostrar esta vinculación. Alguno de

ellos, con la intención de eliminar sesgos de selección por aspectos culturales y/o socioeconómicos, estudiaron a parejas de gemelos, en las que solo uno de los hermanos había estado expuesto. Ni con este tipo de diseño consiguieron encontrar un lazo entre anestesia y neurotoxicidad.<sup>201</sup>

Recientemente, en el año 2016, en la revista JAMA se han publicado los resultados preliminares de uno de los estudios multicéntricos a este respecto mejor diseñado, coordinado desde el Columbia Medical Center de Nueva York, llevado a cabo por los autores Di Maggio y Lena S Sun, que llevan años estudiando los efectos perniciosos o beneficiosos de la exposición anestésica en niños pequeños. Así, podemos leer en sus últimas conclusiones: "En niños sanos sometidos a una única exposición a anestesia antes de los 36 meses de edad, en comparación con sus hermanos sanos no expuestos, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en las puntuaciones de CI en la niñez posterior. Son necesarios más estudios incluyendo la exposición repetida, prolongada y en subgrupos vulnerables".<sup>202</sup>

Podemos decir, por lo anteriormente expuesto que, a fechas de redacción de esta tesis, el efecto de los anestésicos generales en el sistema nervioso de los niños y su posible repercusión, o no, sobre la capacidad de aprendizaje no se ha podido determinar aún. Por razones éticas no es posible el diseño aleatorizado de este tipo de trabajos en el ser humano, puesto que no es éticamente aceptable intervenir quirúrgicamente a un niño sin anestesia ni tampoco lo es anestesiar a un niño que no precise ser intervenido.

Por otro lado, no disponemos de trabajos que separen el binomio anestesia-cirugía, por lo que la posible contribución del daño quirúrgico en los resultados está siempre presente en los estudios disponibles.

El doble efecto de los inhalados (neurotoxicidad y/o neuroprotección) es contradictorio y, tal como hemos desarrollado hasta ahora en nuestro trabajo, existen evidencias de estudios en laboratorio que sostienen ambas teorías.

Los trabajos clínicos, en modelos humanos, que apoyen los efectos neuroprotectores son aún muy escasos.

## 1. 2. NUESTROS RESULTADOS

Con el diseño de nuestro trabajo pretendíamos responder a algunas cuestiones que se mencionaban en las conclusiones de numerosos artículos que habíamos consultado sobre el tema.

La primera de ellas era la de evaluar el efecto de los agentes anestésicos en humanos. Efectivamente, la literatura acerca de los efectos nocivos de los anestésicos sobre el sistema nervioso central en animales es abundante, pero en humanos escasea y, realmente, sobre los posibles efectos neuroprotectores podemos decir en nuestros días que es muy escasa en animales de experimentación y apenas incipiente en humanos.

En segundo lugar, con el diseño de nuestro estudio, pretendíamos romper el dúo exposición anestésica-intervención quirúrgica. En algunos trabajos analizados se cuestionaba la posibilidad de la elevación de los marcadores de daño neuronal por un daño tisular propio de la agresión quirúrgica. En nuestro trabajo, la RMN no supone ninguna injuria (al menos, conocida) a los tejidos.

En tercer y último lugar, gracias al control ansiolítico de los niños con métodos no farmacológicos (ambiente lúdico, salas pediátricas con elementos distractores, presencia de los responsables del menor en todo momento, etc.) pudimos eliminar la necesidad de medicación sedante y, de esta manera, estudiar el comportamiento de un solo fármaco, el sevoflurano, administrado exclusivamente.

Sabemos que concentraciones bajas de proteína S100B sérica se relacionan con un efecto neurotrópico y que, por el contrario, su elevación se asocia con un aumento de la actividad neuroapoptótica.

En nuestro estudio, los valores de S100B postexposición (mediana = 66,5 ng/l) fueron significativamente inferiores a los de S100B basal (mediana = 84,0 ng/l), resultando un descenso de los niveles de la proteína S100B sérica tras la anestesia general con sevoflurano inhalado. Además, el aumento del tiempo de exposición a sevoflurano se relacionó con un mayor descenso de la proteína S100B sérica. Por ello, consideramos que el sevoflurano podría tener un efecto antiapoptótico o neuroprotector en el SNC.

Hay que resaltar a este respecto que, en este trabajo, los pacientes fueron anestesiados con concentraciones bajas de sevoflurano (2-3%) y un período de tiempo breve, ya que estudios en animales han observado un efecto neurotóxico o neuroprotector dependiendo de la concentración a la que se administra el fármaco o bien del tiempo que dura la exposición. Las dosis altas (8%) o las exposiciones prolongadas se han relacionado con un aumento de la actividad neuroapoptótica; en cambio, las dosis bajas (2%) y los períodos breves de exposición se asocian con una disminución de la neuroapoptosis.<sup>138</sup>

También se ha comprobado una disminución de la actividad neuroapoptótica mediante la determinación de caspasa-3 en cerebros de ratas que sufrieron una lesión isquémica cerebral y fueron tratadas con sevoflurano al 2,4%.<sup>137</sup>

En un trabajo publicado recientemente por nuestro grupo de investigación<sup>203</sup> (203) obtuvimos un incremento significativo de la proteína S100B sérica tras la administración de una anestesia general balanceada (propofol, midazolam y fentanilo intravenosos para la inducción, además de sevoflurano inhalado para la inducción y el mantenimiento). No se pudo establecer una relación de daño cerebral con un determinado fármaco, sino con la anestesia general en su conjunto.

En ese mismo estudio, resultó una relación inversamente proporcional de baja intensidad entre el tiempo de la intervención y el incremento de proteína S100B sérica; es decir, cuanto más tiempo estuvo el paciente anestesiado, el daño cerebral producido por la anestesia fue menor, lo que indicaba que un aumento del tiempo de exposición a los fármacos anestésicos podría tener un efecto protector. En esos pacientes, el mantenimiento de la anestesia se realizó mediante la administración de sevoflurano inhalado al 2%, lo que explicaría ese efecto neuroprotector, ya que, al prolongar la duración de la anestesia, aumentó el tiempo de exposición a sevoflurano a dosis bajas.

De confirmarse este supuesto efecto antiapoptótico del sevoflurano, sus posibilidades como anestésico podrían sufrir un cambio sustancial y, lo que es más, se podría plantear la posibilidad de su aplicación fuera del campo de la anestesia, quizás en el tratamiento de enfermedades en las que subyace un proceso de muerte neuronal, como la encefalopatía hipóxico-isquémica de los recién nacidos, o el Alzheimer.

Sin duda debemos concluir nuestro trabajo destacando la necesidad de nuevos estudios que confirmen, o no, nuestros hallazgos y que continúen desenmarañando la intrincada madeja de los efectos de los anestésicos sobre el sistema nervioso central humano, aún desconocido y siempre apasionante.

# **VII. CONCLUSIONES**



## 1. CONCLUSIONES

Con la realización de este trabajo y de los resultados obtenidos podemos redactar, resumidamente, el siguiente corolario:

1. La exposición al sevoflurano como agente anestésico único en población pediátrica indujo una modificación de los niveles plasmáticos de proteína S100B antes y después de dicha exposición, con significación estadística.
2. Los niveles de proteína S100B postexposición fueron inferiores a los basales.
3. Considerando a la proteína S100B marcador de daño neuronal, nuestros resultados sustentan la hipótesis de otros autores de un potencial efecto neuroprotector del sevoflurano administrado a dosis bajas y períodos de tiempo breve.
4. No encontramos asociación de los niveles de S100 B (tanto basal como postexposición) con la edad ni con el sexo.
5. Son necesarios más estudios que corroboren, o no, nuestros hallazgos.



# VIII. ANEXOS



# 1. MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimados PADRES/REPRESENTANTES LEGALES del paciente:

Un grupo de profesionales del HUPR estamos llevando a cabo un trabajo de investigación sobre LOS EFECTOS DE LOS FÁRMACOS ANESTÉSICOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE LOS NIÑOS en pacientes que van a ser anestesiados para la realización de una resonancia cerebral. Para ello, analizamos en el laboratorio de nuestro hospital unas sustancias presentes en la sangre del niño, en primer lugar, en la muestra obtenida para la analítica preoperatoria y, en segundo lugar, en otra muestra que se extraerá al finalizar la anestesia, a través de la vía venosa que se colocará al paciente para la realización de la prueba. Deben saber, por tanto, que no implica "pinchar" más veces al niño ni modificar su manejo anestésico. Les informamos también de que el uso de los datos de los pacientes se hará cumpliendo en todo momento con la normativa vigente acerca de protección de datos y que este protocolo de estudio ha sido estudiado y aprobado por el Comité de Ética del Centro.

Una vez comprobado que el paciente cumple los criterios de inclusión y no los de exclusión, debido a que se trata de población pediátrica, informados los padres/representantes legales y, acorde a su edad, el propio niño, y resueltas cuantas dudas hayan podido surgir, solicitamos libremente autorización expresa de los representantes para participar en el estudio.

Autorizo:

Firma del representante

Nombre del representante: .....

DNI: .....

Nombre del paciente: .....

HUPR a .....de ..... de 201....

Rechazo:

Firma del representante

Nombre del representante: .....

DNI: .....

Nombre del paciente: .....

HUPR a .....de ..... de 201....

A continuación, se les da a ustedes la posibilidad de retirar de forma libre y consciente el consentimiento para esta intervención en cualquier momento.

Revoco mi consentimiento:

Firma del representante

Nombre del representante: .....

DNI: .....

Nombre del paciente: .....

HUPR a ..... de ..... de 201....

## 2. DIFUSIÓN

### 1. PUBLICACIONES EN REVISTAS RELACIONADAS CON LA MATERIA

**EFFECTO NEUROPROTECTOR DEL SEVOFLURANO EN ANESTESIA GENERAL.** Victoria Ramos Ramos, Pablo Mesa Suárez, José Diego Santotoribio, María Angela González García y Antonio Muñoz Hoyos.

Revista Medicina Clínica. 2017; 148 (4):158-160.

**REFLEXIONES SOBRE LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR OPIOIDES EN EL CONTEXTO DE UNA ANESTESIA GENERAL EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA.**

P. Mesa Suárez, M. V. Ramos Ramos, J. D. Santotoribio Camacho, J. Estudillo Lobato, A. Muñoz Hoyos.

Revista de la Sociedad Española del Dolor, 2016; 23(4):181-185.

### **DAÑO CEREBRAL POSTANESTESIA GENERAL.**

P. Mesa Suárez, José Santotoribio Camacho, Victoria Ramos Ramos, María Angela González García, Santiago Pérez Ramos, David Portilla Huerta y Antonio Muñoz Hoyos.

Revista Medicina Clínica (Barc). 2016;146(9):384-388.

## **2. COMUNICACIONES EN REUNIONES CIENTÍFICAS.**

### **PROTEÍNA S100B COMO MARCADOR SÉRICO DE DAÑO CEREBRAL POSTANESTESIA GENERAL EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA.**

José Santotoribio Camacho, P. Mesa Suárez, Victoria Ramos Ramos, María Angela González García, David Portilla Huerta y Santiago Pérez Ramos.

XXIII REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ANDALUZA DE ANÁLISIS CLÍNICOS. Almería. 3-5 marzo 2016. PREMIO A MEJOR COMUNICACIÓN.

### **S100B PROTEIN AS SERUM MARKER OF BRAIN DAMAGE AFTER GENERAL ANESTHESIA.**

José Santotoribio Camacho, P. Mesa Suárez, Victoria Ramos Ramos, María Angela González García, Santiago Pérez Ramos, David Portilla Huerta y Antonio Muñoz Hoyos.

68TH AACC ANNUAL SCIENTIFIC MEETING AND CLINICAL LAB EXPO.

PHILADELPHYA. 31 July-4 August 2016.

# VIII. BIBLIOGRAFÍA



- <sup>1</sup> J. Mackey, D. Wasnick, J. Butterworth. *Anestesiología clínica de Morgan y Mikhail*. Quinta edición. México. Manual Moderno; 2014.
- <sup>2</sup> Wilton C. Levine. *Procedimientos en Anestesia del Massachusetts General Hospital*, 8ª edición. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2013.
- <sup>3</sup> Ronald D. Miller y Lars I. Eriksson. *Anestesia*, 8ª edición. Elsevier. 2015.
- <sup>4</sup> En Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK et al Editores. *Manual de anestesia clínica*, 7ª edición. Philadelphia. Ed. Lippicott Williams & Wilkins, 2013: 257-70.
- <sup>5</sup> Fuertes Olivera A, Cuesta Marín N. *Anestesiología y Reanimación, una guía práctica*. Madrid. Ed. Arán, 2013: 137-44.
- <sup>6</sup> Bara B. *Farmacocinética de los anestésicos halogenados*. En: Mas & Marfany J ed. *Manual teórico práctico del circuito circular a flujos mínimos en Anestesiología*. Ed. Ergon. Barcelona, 2012.
- <sup>7</sup> Preckel B. Bolten J. *Pharmacology of modern volatile anaesthetics*. Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology, 2005; 19 (3): 331-348.
- <sup>8</sup> Olsen, R.W.; Li, G.D. *GABAA receptors as molecular targets of general anaesthetics: Identification of binding sites provides clues to allosteric modulation*. Can. J. Anaesth. 2011, 58, 206-215.
- <sup>9</sup> Cechova, S.; Zuo, Z. *Inhibition of glutamate transporters increases the minimum alveolar concentration for isoflurane in rats*. Br. J. Anaesth. 2006, 97, 192–195.

- <sup>10</sup> Nishikawa, K.; Harrison, N.L. *The actions of sevoflurane and desflurane on the gamma-aminobutyric acid receptor type A: Effects of TM2 mutations in the alpha and beta subunits.* *Anesthesiology* 2003, 99, 678–684.
- <sup>11</sup> Mihic, S.J.; Ye, Q.; Wick, M.J.; Koltchine, V.V.; Krasowski, M.D.; Finn, S.E.; Mascia, M.P.; Valenzuela, C.F.; Hanson, K.K.; Greenblatt, E.P.; et al. *Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABAA and glycine receptors.* *Nature* 1997, 389, 385–389.
- <sup>12</sup> Harrison, N.L.; Simmonds, M.A. *Quantitative studies on some antagonists of N-methyl D-aspartate in slices of rat cerebral cortex.* *Br. J. Pharmacol.* 1985, 84, 381–391.
- <sup>13</sup> Overton, C.E. *Studien über die Narkose zugleich ein Beitrag zur Allgemeinen Pharmakologie* (in German); Fischer: Berlin, German, 1901.
- <sup>14</sup> Meyer, H. Zur. *Theorie der Alkoholnarkose.* *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 1899, 42, 109–118 (in German).
- <sup>15</sup> Koblin, D.D.; Chortkoff, B.S.; Laster, M.J.; Eger, E.I., II; Halsey, M.J.; Ionescu, P. *Polyhalogenated and perfluorinated compounds that disobey the Meyer-Overton hypothesis.* *Anesth. Analg.* 1994, 79, 1043–1048.
- <sup>16</sup> Franks, N.P.; Lieb, W.R. *Stereospecific effects of inhalational general anesthetic optical isomers on nerve ion channels.* *Science* 1991, 254, 427–430.
- <sup>17</sup> Wachtel, R.E.; Wegrzynowicz, E.S. *Mechanism of volatile anesthetic action on ion channels.* *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1991, 625, 116–128.
- <sup>18</sup> Horishita, T.; Eger, E.I., II; Harris, R.A. *The effects of volatile aromatic anesthetics on voltage-gated Na<sup>+</sup> channels expressed in Xenopus oocytes.* *Anesth. Analg.* 2008, 107, 1579–1586.

- <sup>19</sup> Thrane, Alexander Stanley et al. "General Anesthesia Selectively Disrupts Astrocyte Calcium Signaling in the Awake Mouse Cortex." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109.46 (2012): 18974–18979. *PMC*. Web. 17 Apr. 2017.
- <sup>20</sup> Tanaka T, Kai S, Matsuyama T, Adachi T, Fukuda K, Hirota K. *General Anesthetics Inhibit LPS-Induced IL-1 $\beta$  Expression in Glial Cells*. Moser M, ed. *PLoS ONE*. 2013;8(12): e82930. doi:10.1371/journal.pone.0082930.
- <sup>21</sup> Ye X, Lian Q, Eckenhoff MF, Eckenhoff RG, Pan JZ. *Differential General Anesthetic Effects on Microglial Cytokine Expression*. Xie Z, ed. *PLoS ONE*. 2013;8(1): e52887. doi:10.1371/journal.pone.0052887..
- <sup>22</sup> Brambrink AM, Back SA, Riddle A, Gong X, Moravec MD, Dissen GA, Creeley CE, Dikranian KT, Olney JW. *Isoflurane-induced apoptosis of oligodendrocytes in the neonatal primate brain*. *Ann Neurol*. 2012;72:525–535.
- <sup>23</sup> Culley DJ, Cotran EK, Karlsson E, Palanisamy A, Boyd JD, Xie Z, Crosby G. *Isoflurane affects the cytoskeleton but not survival, proliferation, or synaptogenic properties of rat astrocytes in vitro*. *Br J Anaesth*. 2013;110(Suppl 1):i19–28.
- <sup>24</sup> Ryu YK, Khan S, Smith SC, Mintz CD. *Isoflurane impairs the capacity of astrocytes to support neuronal development in a mouse dissociated coculture model*. *J Neurosurgical Anesth*. 2014;26:363–368.
- <sup>25</sup> Rhondali O, Mahr A, Simonin-Lansiaux S, De Queiroz M, Rhzioual-Berrada K, Combet S, Cejka JC, Chassard D. *Impact of sevoflurane anesthesia on cerebral blood flow in children younger than 2 years*. *Paediatr Anaesth*. 2013 Oct; 23(10):946-51. Epub 2013 Apr 9.

- <sup>26</sup> Cornelissen L, Kim SE, Purdon PL, Brown EN, Berde CB. *Age-dependent electroencephalogram (EEG) patterns during sevoflurane general anesthesia in infants.* *Elife.* 2015 Jun 23; 4:e06513. Epub 2015 Jun 23.
- <sup>27</sup> Kang J, Reynolds WP, Chen X, et al, “*Mechanisms Underlying the QT interval-prolonging Effects of Sevoflurane and Its Interactions With Other QT-prolonging Drugs,*” *Anesthesiology*, 2006, 104(5):1015-22. [PubMed 16645454].
- <sup>28</sup> Page RL 2nd, O'Bryant CL, Cheng D, et al; American Heart Association Clinical Pharmacology and Heart Failure and Transplantation Committees of the Council on Clinical Cardiology; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; and Council on Quality of Care and Outcomes Research. *Drugs That May Cause or Exacerbate Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association [published correction appears in Circulation. 2016;134(12):e261].* *Circulation.* 2016;134(6):e32-e69. [PubMed 27400984].
- <sup>29</sup> De Hert SG, Turani F, Mathur S, et al, *Cardioprotection With Volatile Anesthetics: Mechanisms and Clinical Implications,* *Anesth Analg*, 2005, 100(6):1584-93. [PubMed 15920178].
- <sup>30</sup> Simons JC, Pierce E, Diaz-Gil D, Malviya SA, Meyer MJ, Timm FP, Stokholm JB, Rosow CE, Kacmarek RM, Eikermann M. *Effects of Depth of Propofol and Sevoflurane Anesthesia on Upper Airway Collapsibility, Respiratory Genioglossus Activation, and Breathing in Healthy Volunteers.* *Anesthesiology.* 2016 Sep; 125(3):525-34
- <sup>31</sup> Safari S, Motavaf M, Seyed Siamdoust SA, Alavian SM. *Iran Hepatotoxicity of halogenated inhalational anesthetics.* *Red Crescent Med J.* 2014 Sep; 16(9):e20153. Epub 2014 Sep 5.

- <sup>32</sup> Ijiri Y. et al. *Contributions of caspase-8 and -9 to liver injury from CYP2E1-produced metabolites of halogenated hydrocarbons*. *Xenobiotica* 2017 Jan 12:1-13. doi: 10.1080/00498254.2016.1275881. [Epub ahead of print]
- <sup>33</sup> Karadeniz MS, Ciftci HS, Tefik T, Mammadov O, Yazıcı H, Nane I, Turkmen A, Oguz F, Tugrul KM *Comparison of Two Different Inhalation Anesthetics on Grafted Kidney Function in Patients Undergoing Renal Transplantation Surgery: Desflurane or Sevoflurane?*. *Transplant Proc.* 2017 Apr;49(3):448-453.
- <sup>34</sup> Bang JY, Lee J, Oh J, Song JG, Hwang GS. *The Influence of Propofol and Sevoflurane on Acute Kidney Injury After Colorectal Surgery: A Retrospective Cohort Study*. *Anesth Analg.* 2016 Aug;123(2):363-70
- <sup>35</sup> Ishizawa Y. *General anaesthetics gases and the global environment*. *Anest Analg* 2011; 112: 213 – 217.
- <sup>36</sup> Ryan SM, Nielsen CJ. *Global warming potencial of inhaled anesthetics: application to clinical use*. *Anest Analg* 2010; 111: 92 – 98.
- <sup>37</sup> Preckel B, Schlack W. *Inert gases as the future inhalational anaesthetics?* *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology* 2005; 19 (3): 365 – 379.
- <sup>38</sup> Yakovlev P., Lecours A-R. *The myelination cycles of regional maturation of the brain*. In *Revista Pediatría Electrónica Universidad de Chile Servicio Salud Metropolitano Norte Facultad de Medicina Hospital Clínico de Niños Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil Roberto Del Río Rev. Ped. Elec. [en línea] 2005, Vol 2, N° 1. ISSN 0718-0918 45*  
Minkowsky A. (ed): *Regional Development of the brain in early life*. Philadelphia, Davis, 1967: 3-70.
- <sup>39</sup> Haines. *Principios de neurociencia*. Ed. Elsevier. Ed. 4°. 2014.

- <sup>40</sup> García Porrero et al. *Neuroanatomía humana*. Ed. Médica Panamericana. 2015.
- <sup>41</sup> Kiernan. *El sistema nervioso humano*. Ed. Wolters Kluwer. Ed. 10°. 2014.
- <sup>42</sup> Snell. *Neuroanatomía clínica*. Ed. Wolters Kluwer. Ed. 7°. 2014.
- <sup>43</sup> Owens D., Kriegstein A. *Is there more to GABA than synaptic inhibition?* Nat Rev Neurosci. 2002 Sep; 3(9): 715-27.
- <sup>44</sup> Lujan R., Shigemoto R., Lopez-Bendito G. *Glutamate and GABA receptor signaling in the developing brain*. Neuroscience. 2005; 130(3): 567- 80.
- <sup>45</sup> Holland P. *Homeobox genes and the vertebrate head*. Development 1988; 103: S17- S24.
- <sup>46</sup> Lenn N. *Brain plasticity and regeneration*. AJNR.1992; 13: 505-515.
- <sup>47</sup> Kempermann G., Wiskott .L, Gage F. *Functional significance of adult neurogenesis*. Curr Opin Neurobiol. 2004 Apr; 14(2): 186-91.
- <sup>48</sup> Parent J. *The role of seizure-induced neurogenesis in epileptogenesis and brain repair*. Epilepsy Research. 50 (1-2) (2002) pp. 179 - 189.
- <sup>49</sup> T.J. Shors G., Miesegaes A., Beylin M., Zhao T., Rydel and E. Gould. *Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories*. Nature 410 (2001), pp. 372–376. [Citado 14 abril 2005] Disponible en Internet: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?holding=npg&cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=11268214&dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?holding=npg&cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=11268214&dopt=Abstract)
- <sup>50</sup> Santarelli L., Saxe M., Gross C., Surget A., Battaglia F., Dulawa S., Weisstaub N., Lee J., Duman R., Arancio O. et al. *Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants*. Science 301 (2003), pp. 805–809.

- 
- <sup>51</sup> Cohen GM. *Caspases: the executioners of apoptosis*. The Biochemical journal 1997 Aug 15;326 (Pt 1):1-16.
- <sup>52</sup> Khosravi-Far R, Esposti MD. *Death receptor signals to mitochondria*. Cancer biology & therapy 2004 Nov;3(11):1051-7.
- <sup>53</sup> Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X. *Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade*. Cell 1997 Nov 14;91(4):479-89.
- <sup>54</sup> Korsmeyer SJ, Wei MC, Saito M, Weiler S, Oh KJ, Schlesinger PH. *Pro-apoptotic cascade activates BID, which oligomerizes BAK or BAX into pores that result in the release of cytochrome c*. Cell death and differentiation 2000 Dec;7(12):1166-73.
- <sup>55</sup> Gong XM, Choi J, Franzin CM, Zhai D, Reed JC, Marassi FM. *Conformation of membrane-associated proapoptotic tBid*. The Journal of biological chemistry 2004 Jul 9;279(28):28954-60.
- <sup>56</sup> Nechushtan A, Smith CL, Lamensdorf I, Yoon SH, Youle RJ. *Bax and Bak coalesce into novel mitochondria-associated clusters during apoptosis*. The Journal of cell biology 2001 Jun 11;153(6):1265-76.
- <sup>57</sup> Grinberg M, Sarig R, Zaltsman Y, Frumkin D, Grammatikakis N, Reuveny E, Gross A. *IBID Homooligomerizes in the mitochondrial membrane to induce apoptosis*. The Journal of biological chemistry 2002 Apr 5;277(14):12237-45.
- <sup>58</sup> Saito M, Korsmeyer SJ, Schlesinger PH. *BAX-dependent transport of cytochrome c reconstituted in pure liposomes*. Nature cell biology 2000 Aug;2(8):553-5.
- <sup>59</sup> Ke N, Godzik A, Reed JC. Bcl-B, a novel Bcl-2 family member that differentially binds and regulates Bax and Bak. The Journal of biological chemistry 2001 Apr 20;276(16):12481-4.

- <sup>60</sup> Shangary S, Johnson DE. *Peptides derived from BH3 domains of Bcl-2 family members: a comparative analysis of inhibition of Bcl-2, Bcl-x(L) and Bax oligomerization, induction of cytochrome c release, and activation of cell death.* *Biochemistry* 2002 Jul 30;41(30):9485-95.
- <sup>61</sup> Magdalena L. Circu and Tak Yee Aw. *Reactive oxygen species, cellular redox systems and apoptosis.* *Free Radic Biol Med.* 2010 Mar 15; 48(6): 749–762.
- <sup>62</sup> Guadalupe Sabio and Roger J. Davis NIHMSID: NIHMS572184. *TNF and MAP kinase signaling pathways.* *Semin Immunol.* 2014 Jun; 26(3): 237–245.
- <sup>63</sup> Amaral JD<sup>1</sup>, Xavier JM, Steer CJ, Rodrigues CM. *The role of p53 in apoptosis.* *Discov Med.* 2010 Feb;9(45):145-52.
- <sup>64</sup> Jevtovic-Todorovic V, Carter LB. *The anesthetics nitrous oxide and ketamine are more neurotoxic to old than to young rat brain.* *Neurobiol Aging.* 2005 Jun;26(6):947-56.
- <sup>65</sup> Lucy X. Lu, Jun-Heum Yon, Lisa B. Carter, Jevtovic-Todorovic V. *General anesthesia activates BDNF-dependent neuroapoptosis in the developing rat brain.* *Apoptosis* September 2006; 11 (9): 1603-1615.
- <sup>66</sup> Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF, Olney JW, Wozniak DF. *Common Pediatric Anesthesia Drugs Cause Brain Damage and Learning and Memory Problems in Infant Rats.* *Journal of Neuroscience*, vol. 23:3, pp. 876-882, Feb. 1, 2003.
- <sup>67</sup> Fredriksson A, Pontén E, Gordh T, Eriksson P: *Neonatal exposure to a combination of N-methyl-d-aspartate and  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits.* *Anesthesiology* 2007; 107:427–36.

- <sup>68</sup> Fredriksson, A Pontén, E Gordh, T Eriksson, P Wozniak DF, Hartman RE, Boyle MP, Vogt SK, Brooks AR, Tenkova T, Young C, Olney JW, Muglia LJ: *Apoptotic neurodegeneration induced by ethanol in neonatal mice is associated with profound learning/memory deficits in juveniles followed by progressive functional recovery in adults*. Neurobiol Dis 2004; 17:403–14.
- <sup>69</sup> Maiko Satomoto, M.D.; Yasushi Satoh, Ph.D.; Katsuo Terui, M.D., Ph.D.; Hideki Miyao, M.D., Ph.D.; Kunio Takishima, Ph.D.; Masataka Ito, M.D., Ph.D.; Junko Imaki, M.D., Ph.D. *Neonatal Exposure to Sevoflurane Induces Abnormal Social Behaviors and Deficits in Fear Conditioning in Mice*. Anesthesiology. 2009, Vol.110, 628-637.
- <sup>70</sup> Johnson SA, Young C, Olney JW: *Isoflurane-induced neuroapoptosis in the developing brain of nonhypoglycemic mice*. J Neurosurg Anesthesiol 2008; 20:21.
- <sup>71</sup> Yon JH, Daniel-Johnson J, Carter LB et al. *Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways*. Neuroscience 2005; 135: 815–827.
- <sup>72</sup> Sanders RD, Xu J, Shu Y, Fidalgo A, Ma D, Maze M. *General anesthetics induce apoptotic neurodegeneration in the neonatal rat spinal cord*. Anesth Analg. 2008 Jun;106(6):1708-11.
- <sup>73</sup> Kodama M, Satoh Y, Otsubo Y, Araki Y, Yonamine R, Masui K, Kazama T. *Neonatal desflurane exposure induces more robust neuroapoptosis than do isoflurane and sevoflurane and impairs working memory*. Anesthesiology. 2011 Nov;115(5):979-91.
- <sup>74</sup> Mellon RD, Simone AF, Rappaport BA. *Use of anesthetic agents in neonates and young children*. Anesth Analg. 2007 Mar;104(3):509-20.
- <sup>75</sup> Mintz CD, Wagner M, Loeper AW. *Preclinical research into the effects of anesthetics on the developing brain: promises and pitfalls*. J Neurosurg Anesthesiol. 2012 Oct;24(4):362-7.

- <sup>76</sup> Istaphanous GK, Ward CG, Loepke AW. *The impact of the perioperative period on neurocognitive development, with a focus on pharmacological concerns*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol. 2010 Sep;24(3):433-49.
- <sup>77</sup> Hofacer RD, Deng M, Ward CG, Joseph B, Hughes EA, Jiang C et al. *Cell age-specific vulnerability of neurons to anesthetic toxicity*. Ann Neurol. 2013 Jun;73(6):695-704.
- <sup>78</sup> Morriss FH Jr, Saha S, Bell EF, Colaizy TT, Stoll BJ, Hintz SR, Shankaran S, Vohr BR, Hamrick SE, Pappas A, Jones PM, Carlo WA, Laptook AR, Van Meurs KP, Sánchez PJ, Hale EC, Newman NS, Das A, Higgins RD; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *Surgery and neurodevelopmental outcome of very low-birth-weight infants*. JAMA Pediatr 2014; 168: 746- 54.
- <sup>79</sup> Kalkman CJ, Peelen L, Moons KG, Veenhuizen M, Bruens M, Sinnema G, de Jong TP. *Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure*. Anesthesiology 2009; 110: 805-12.
- <sup>80</sup> Hansen TG, Pedersen JK, Henneberg SW, Pedersen DA, Murray JC, Morton NS, Christensen K. *Academic performance in adolescence after inguinal hernia repair in infancy: a nationwide cohort study*. Anesthesiology. 2011; 114: 1076-85.
- <sup>81</sup> Filan PM, Hunt RW, Anderson PJ, Doyle LW, Inder TE. *Neurologic outcomes in very preterm infants undergoing surgery*. J Pediatr 2012; 160: 409-14.
- <sup>82</sup> Yang HK, Chungh DS, Hwang JM. *The effect of general anesthesia and strabismus surgery on the intellectual abilities of children: a pilot study*. Am J Ophthalmol 2012; 153: 609-13.
- <sup>83</sup> Bong CL, Allen JC, Kim JT. *The effects of exposure to general anesthesia in infancy on academic performance at age 12*. Anesth Analg 2013; 117: 1419-28.

- <sup>84</sup> Fan Q, Cai Y, Chen K, Li W. *Prognostic study of sevoflurane-based general anesthesia on cognitive function in children.* J Anesth 2013; 27: 493-9.
- <sup>85</sup> Hansen TG, Pedersen JK, Henneberg SW, Morton NS, Christensen K. *Educational outcome in adolescence following pyloric stenosis repair before 3 months of age: a nationwide cohort study.* Paediatr Anaesth 2013; 23: 883-90.
- <sup>86</sup> Ko WR, Liaw YP, Huang JY, Zhao DH, Chang HC, Ko PC, Jan SR, Nfor ON, Chiang YC, Lin LY. *Exposure to general anesthesia in early life and the risk of attention deficit/hyperactivity disorder development: a nationwide, retrospective matched-cohort study.* Paediatr Anaesth 2014; 24: 741-8.
- <sup>87</sup> Sun LS, Li G, DiMaggio CJ, Byrne MW, Ing C, Miller TL, Bellinger DC, Han S, McGowan FX. *Feasibility and pilot study of the Pediatric Anesthesia Neuro Development Assessment (PANDA) project.* J Neurosurg Anesthesiol. 2012; 24: 382-8.
- <sup>88</sup> Sun LS, Li G, Miller TL, Salorio C, Byrne MW, Bellinger DC, Ing C, Park R, Radcliffe J, Hays SR, DiMaggio CJ, Cooper TJ, Rauh V, Maxwell LG, Youn A, McGowan FX. *Association Between a Single General Anesthesia Exposure Before Age 36 Months and Neurocognitive Outcomes in Later Childhood.* JAMA 2016;315:2312-20.
- <sup>89</sup> Davidson AJ, Disma N, de Graaff JC, Withington DE, Dorris L, Bell G, Stargatt R, Bellinger DC, Schuster T, Arnup SJ, Hardy P, Hunt RW, Takagi MJ, Giribaldi G, Hartmann PL, Salvo I, Morton NS, von Ungern Sternberg BS, Locatelli BG, Wilton N, Lynn A, Thomas JJ, Polaner D, Bagshaw O, Szmuk P, Absalom AR, Frawley G, Berde C, Ormond GD, Marmor J, McCann ME; GAS consortium. *Neurodevelopmental outcome at 2 years of age after general anaesthesia and awake-regional anaesthesia in infancy (GAS): an international multicentre, randomised controlled trial.* Lancet 2016; 387: 239-50.

- <sup>90</sup> Flick RP, Katusic SK, Colligan RC, Wilder RT, Voigt RG, Olson MD, et al. *Cognitive and behavioral outcomes after early exposure to anesthesia and surgery*. Pediatrics 2011; 128: e1053-61.
- <sup>91</sup> Block RI, Thomas JJ, Bayman EO, Choi JY, Kimble KK, Todd MM. *Are anesthesia and surgery during infancy associated with altered academic performance during childhood?* Anesthesiology 2012; 117: 494-503.
- <sup>92</sup> Ing C, DiMaggio C, Whitehouse A, Hegarty MK, Brady J, von Ungern-Sternberg BS, Davidson A, Wood AJ, Li G, Sun LS. *Long-term differences in language and cognitive function after childhood exposure to anesthesia*. Pediatrics 2012; 130: e476-85.
- <sup>93</sup> Naumann HL, Haberkern CM, Pietila KE, Birgfeld CB, Starr JR, Kapp-Simon KA, Hopper RA, Speltz ML. *Duration of exposure to cranial vault surgery: associations with neurodevelopment among children with single-suture craniosynostosis*. Paediatr Anaesth 2012; 22: 1053-61.
- <sup>94</sup> Sprung J, Flick RP, Katusic SK, Colligan RC, Barbaresi WJ, Bojanić K, Welch TL, Olson MD, Hanson AC, Schroeder DR, Wilder RT, Warner DO. *Attention-deficit/hyperactivity disorder after early exposure to procedures requiring general anesthesia*. Mayo Clin Proc 2012; 87: 120-9.
- <sup>95</sup> Walker K, Badawi N, Halliday R, Stewart J, Sholler GF, Winlaw DS, Sherwood M, Holland AJ. *Early developmental outcomes following major noncardiac and cardiac surgery in term infants: a population-based study*. J Pediatr 2012; 161: 748-752.
- <sup>96</sup> Ing CH, DiMaggio CJ, Malacova E, Whitehouse AJ, Hegarty MK, Feng T, Brady JE, von Ungern-Sternberg BS, Davidson AJ, Wall MM, Wood AJ, Li G, Sun LS. *Comparative analysis of outcome measures used in examining neurodevelopmental effects of early childhood anesthesia exposure*. Anesthesiology 2014; 120: 1319-32.

- 
- <sup>97</sup> Morriss FH Jr, Saha S, Bell EF, Colaizy TT, Stoll BJ, Hintz SR, Shankaran S, Vohr BR, Hamrick SE, Pappas A, Jones PM, Carlo WA, Laptook AR, Van Meurs KP, Sánchez PJ, Hale EC, Newman NS, Das A, Higgins RD; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *Surgery and neurodevelopmental outcome of very low-birth-weight infants*. JAMA Pediatr 2014; 168: 746- 54.
- <sup>98</sup> Wang X, Xu Z, Miao C-H. *Current Clinical Evidence on the Effect of General Anesthesia on Neurodevelopment in Children: An Updated Systematic Review with Meta-Regression*. PLoS ONE 2014, 9(1): e85760.
- <sup>99</sup> *La FDA revisa los resultados en nuevas advertencias acerca del uso de anestésicos generales y sedantes en niños pequeños y mujeres embarazadas/FDA review results in new warnings about using general anesthetics and sedation drugs in young children and pregnant women.* <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm532356.htm>; <https://www.fda.gov/Drugs/Drug Safety/ucm534657.htm> (Última consulta 15/03/2017).
- <sup>100</sup> Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. *Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium*. Circulation. 1986 Nov;74(5):1124-36.
- <sup>101</sup> Yellon DM, Alkhulaif AM, Browne E, Pugsley WB. *Ischemic preconditioning limits infarct size in the rat heart*. Cardiovasc Res 1992;26: 983-987.
- <sup>102</sup> Hale SL, Kloner RA. *Effect of ischemic preconditioning on regional myocardial blood flow in the rabbit heart*. Cor Art Dis 1992;3: 133-140.
- <sup>103</sup> Ovize M, Przyklenk K, Kloner RA. *Preconditioning does not attenuate myocardial stunning*. Circulation 1992;85: 2.247-2.254.

- <sup>104</sup> Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. *What is ischemic preconditioning?* En: Przyklenk K, Kloneer RA, Yellon DM, editores. *Ischemic preconditioning: the concept of endogenous cardioprotection*. Boston/Londres: Kluwer Academic Publishers, 1994;3-17.
- <sup>105</sup> Cohen MV, Yang XM, Downey J. *Conscious rabbits become tolerant to multiple episodes of ischemic preconditioning*. *Circ Res* 1994;74: 998-1.004.
- <sup>106</sup> Marber MS, Latchman DS, Walker M, Yellon DM. *Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction*. *Circulation* 1993;88: 1.264-1.272.
- <sup>107</sup> Kuzuya T, Hoshida S, Yamashita N, Fuji H, Oe H, Hori M et al. *Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia*. *Circ Res* 1993;72: 1.293-1.299.
- <sup>108</sup> Qiu Y, Tang XL, Park SW, Sun JZ, Kalya A, Bolli R. *The early and late phases of ischemic preconditioning: a comparative analysis of their effects on infarct size, myocardial stunning, and arrhythmias in conscious pigs undergoing a 40-minute coronary occlusion*. *Circ Res* 1997;80: 730-742.
- <sup>109</sup> Asimakis GK, Inners-McBride K, Medellin G, Conti VR. *Ischemic preconditioning attenuates acidosis and postischemic dysfunction in isolated rat heart*. *Am J Physiol* 1992, 263: 887-894.
- <sup>110</sup> Zaugg M, Lucchinetti E, Spahn DR, Pasch T, Garcia C, Schaub MC. *Differential effects of anesthetics on mitochondrial K(ATP) channel activity and cardiomyocyte protection*. *Anesthesiology*. 2002 Jul;97(1):15-23.
- <sup>111</sup> Michael V. Cohen, Xi-Ming Yang, Yanping Liu, Nataliya V. Solenkova, James M. Downey. *Cardioprotective PKG-independent NO signaling at reperfusion*. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* Published 1 December 2010 Vol. 299 no. 6, H2028-H2036 DOI: 10.1152/ajpheart.00527.2010.

- <sup>112</sup> Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Wartier DC. *Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase*. *Anesthesiology*. 1997 Aug;87(2):361-70.
- <sup>113</sup> De Hert SG, ten Broecke PW, Mertens E, Van Sommeren EW, De Blier IG, Stockman BA, et al. *Sevoflurane but not Propofol Preserves Myocardial Function in Coronary Surgery Patients*. *Anesthesiology* 2002 Jul;97(1):42-9.
- <sup>114</sup> Li F, Yuan Y. *Meta-analysis of the cardioprotective effect of sevoflurane versus propofol during cardiac surgery*. *BMC Anesthesiology*. 2015;15:128. doi:10.1186/s12871-015-0107-8.
- <sup>115</sup> Bignami E. *Volatile anaesthetics added to cardiopulmonary bypass are associated with reduced cardiac troponin*. *Perfusion*. 2017 Mar 1:267659117701562. doi:10.1177/0267659117701562. [Epub ahead of print].
- <sup>116</sup> Yang X-L, Wang D, Zhang G-Y, Guo X-L. *Comparison of the myocardial protective effect of sevoflurane versus propofol in patients undergoing heart valve replacement surgery with cardiopulmonary bypass*. *BMC Anesthesiology*. 2017;17:37. doi:10.1186/s12871-017-0326-2.
- <sup>117</sup> Tanaka K, Ludwig LM, Kersten JR, Pagel PS, Wartier DC. *Mechanisms of cardioprotection by volatile anesthetics*. *Anesthesiology*. 2004 Mar;100(3):707-21.
- <sup>118</sup> Daut J, Maier-Rudolph W, von Beckerath N, Mehrke G, Gunther K, Goedel-Meinen L. *Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels*. *Science*. 1990 Mar 16;247(4948):1341-4.
- <sup>119</sup> Kehl F, Krolikowski JG, Tessmer JP, Pagel PS, Wartier DC, Kersten JR. *Increases in coronary collateral blood flow produced by sevoflurane are mediated by calcium-activated potassium (BKCa) channels in vivo*. *Anesthesiology*. 2002 Sep;97.

- <sup>120</sup> Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML. *Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 Mar;84(5):1404-7 (3):725-31.
- <sup>121</sup> Lee HT, Kim M, Jan M, Emala CW. *Anti-inflammatory and antinecrotic effects of the volatile anesthetic sevoflurane in kidney proximal tubule cells*. Am J Physiol Renal Physiol. 2006 Jul;291(1)pp F67-78.
- <sup>122</sup> Bedirli N, Ofluoglu E, Kerem M, Utebey G, Alper M, Yilmazer D, et al. *Hepatic energy metabolism and the differential protective effects of sevoflurane and isoflurane anesthesia in a rat hepatic ischemia-reperfusion injury model*. Anesth Analg. 2008 Mar;106(3):830-7.
- <sup>123</sup> M Steurer, M Schläpfer, M Steurer, B Roth Z'graggen, C Booy, L Reyes, D R Spahn, B. *The volatile anaesthetic sevoflurane attenuates lipopolysaccharide-induced injury in alveolar macrophages*. Beck-Schimmer. Clin Exp Immunol. 2009 Feb; 155(2): 224–230.
- <sup>124</sup> Buford A. Wells, M.D.Arthur S. Keats, M.D.Denton A. Cooley, M.D. *Increased tolerance to cerebral ischemia produced by general anesthesia during temporary carotid occlusion*. Surgery. July 1963 Volume 54, Issue 1, Pages 216–223.
- <sup>125</sup> Schifilliti, D.; Grasso, G.; Conti, A.; Fodale, V. *Anaesthetic-related neuroprotection: Intravenous or inhalational agents? CNS Drugs 2010, 24, 893–907*.
- <sup>126</sup> Burchell, S.R.; Dixon, B.J.; Tang, J.; Zhang, J.H. *Isoflurane provides neuroprotection in neonatal hypoxic ischemic brain injury*. J. Investig. Med. 2013, 61, 1078–1083.
- <sup>127</sup> Yan, J.; Jiang, H. *Dual effects of ketamine: Neurotoxicity versus neuroprotection in anesthesia for the developing brain*. J. Neurosurg. Anesthesiol. 2014, 26, 155–160.
- <sup>128</sup> *In Vogue: Ketamine for Neuroprotection in Acute Neurologic Injury*. Bell JD. Anesth Analg. 2017 Apr;124(4):1237-1243. doi: 10.1213/ANE.0000000000001856. PMID: 28079589.

- 
- <sup>129</sup> Park HP, Jeong EJ, Kim MH, Hwang JW, Lim YJ, Min SW, Kim CS, Jeon YT (2011) *Effects of sevoflurane on neuronal cell damage after severe cerebral ischemia in rats*. Korean J Anesthesiol 61:327–331.
- <sup>130</sup> Hu X, Zhang Y, Li W, Liu J, Li Y (2013) *Preconditioning with sevoflurane ameliorates spatial learning and memory deficit after focal cerebral ischemia-reperfusion in rats*. Int J Dev Neurosci 31: 328–333.
- <sup>131</sup> Kolbitsch C, Lorenz IH, Hormann C, Kremser C, Schocke M, Felber S, Moser PL, Hinteregger M et al (2001) *Sevoflurane and nitrous oxide increase regional cerebral blood flow (rCBF) and regional cerebral blood volume (rCBV) in a drug-specific manner in human volunteers*. Magn Reson Imaging 19:1253–1260.
- <sup>132</sup> Rozet I, Vavilala MS, Lindley AM, Visco E, Treggiari M, Lam AM (2006) *Cerebral autoregulation and CO<sub>2</sub> reactivity in anterior and posterior cerebral circulation during sevoflurane anesthesia*. Anesth Analg 102:560–564.
- <sup>133</sup> Bedirli N, Bagriacik EU, Emmez H, Yilmaz G, Unal Y, Ozkose Z (2012) *Sevoflurane and isoflurane preconditioning provides neuroprotection by inhibition of apoptosis-related mRNA expression in a rat model of focal cerebral ischemia*. J Neurosurg Anesthesiol 24: 336–344.
- <sup>134</sup> Yang Q, Dong H, Deng J, Wang Q, Ye R, Li X, Hu S, Dong H et al (2011) *Sevoflurane preconditioning induces neuroprotection through reactive oxygen species-mediated up-regulation of antioxidant enzymes in rats*.
- <sup>135</sup> Anest Ye Z, Guo Q, Wang N, Xia P, Yuan Y, Wang E (2012) *Delayed neuroprotection induced by sevoflurane via opening mitochondrial ATP-sensitive potassium channels and p38 MAPK phosphorylation*. Neurol Sci 33:239h Analg 112:931–937.

- <sup>136</sup> Wen XR, Fu YY, Liu HZ, Wu J, Shao XP, Zhang XB, et al. *Neuroprotection of sevoflurane against ischemia/reperfusion-induced brain injury through inhibiting JNK3/caspase-3 by enhancing Akt signaling pathway*. Mol Neurobiol. 2016;53:1661–71.7.
- <sup>137</sup> Wang H. et al. *Sevoflurane Preconditioning Confers Neuroprotection via Anti-apoptosis Effects*. Acta Neurochir Suppl. 2016;121:55-61. doi: 10.1007/978-3-319-18497-5\_10. Med Gas Res . 2016 Oct-Dic; 6 (4): 194 - 205.
- <sup>138</sup> Zhang J, Zhou W, Qiao H. *Bioenergetic homeostasis decides neuroprotection or neurotoxicity induced by volatile anesthetic: A uniform mechanism of dual effects*. Medical Hypotheses. 2011;77:223–9.
- <sup>139</sup> Wei H, Inan S. *Dual effects of neuroprotection and neurotoxicity by general anesthetics: Role of intracellular calcium homeostasis*. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2013;47:10.1016/j.pnpbp.2013.05.009. doi:10.1016/j.pnpbp.2013.05.009.
- <sup>140</sup> B.W. Moore. *A soluble protein characteristic of the nervous system*. Biochem Biophys Res Commun, 19 (1965), pp. 739-744.
- <sup>141</sup> R. Donato, B.R. Cannon, G. Sorci, F. Riuzzi, K. Hsu, D.J. Weber. *Functions of S100 proteins*. Curr Mol Med, 13 (2013), pp. 24-57.
- <sup>142</sup> Donato R. *S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles*. Int J Biochem Cell Biol. 2001 Jul;33(7)637-68.
- <sup>143</sup> M. Arroyo Hernández, J. Rodríguez Suárez, F. Álvarez Menéndez. *Valores de referencia de la proteína S100 en población pediátrica*. An Pediatr (Barc), 84 (2016), pp. 254-259.

- <sup>144</sup> F. Winningham-Major, J.L. Staecker, S.W. Barger, S. Coats and L.J. Van Eldik, *Neurite extension and neuronal survival activities of recombinant S100 proteins that differ in the content and position of cysteine residues*, J. Cell Biol. 109(1989), 3036–3071.
- <sup>145</sup> D.M. Cummings and P.C. Brunjes, *Migrating luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neurons and processes are associated with a substrate that expresses S100*, Developmental Brain Research 88 (1995), 148–157.
- <sup>146</sup> S.W. Barger, L.J. Van Eldik and M.P. Mattson, *S100 $\beta$  protects hippocampal neurons from damage induced by glucose deprivation*, Brain Res. 677 (1995), 167–170.
- <sup>147</sup> Y. Iwasaki, T. Shiojima and M. Kinoshita, *S100 $\beta$  prevents the death of motor neurons in newborn rats after sciatic nerve section*, J. Neurol. Sci. 151 (1997), 7–12.
- <sup>148</sup> H. Nishiyama, T. Knöpfel, S. Endo and S. Itohara, *Glial protein S100 $\beta$  modulates long-term neuronal synaptic plasticity*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99 (2002), 4037–4042.
- <sup>149</sup> A.R. Alexanian and J.R. Bamburg, *Neuronal survival activity of S100 $\beta$  is enhanced by calcineurin inhibitors and requires activation of NF- $\kappa$ B*, FASEB J. 13 (1999), 1611–1620.
- <sup>150</sup> M.A. Hofmann, S. Drury, C. Fu, W. Qu, A. Taguchi, Y. Lu, C. Avila, N. Kambham, A. Bierhaus, P. Nawroth, M.F. Neurath, T. Slattery, D. Beach, J. McClary, M. Nagashima, J. Morser, D. Stern and A.M. Schmidt, *RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides*, Cell 97 (1999), 889–901.
- <sup>151</sup> V.C. Gomide and G. Chadi, *The trophic factors S-100 $\beta$  and basic fibroblast growth factor are increased in the forebrain reactive astrocytes of adult callosotomized rat*, Brain Research 835 (1999), 162–174.

- <sup>152</sup> Hu, J., Ferreira, A. and Van Eldik, L. J. (1997), *S100 $\beta$  Induces Neuronal Cell Death Through Nitric Oxide Release from Astrocytes*. *Journal of Neurochemistry*, 69: 2294–2301. doi:10.1046/j.1471-4159.1997.69062294.x.
- <sup>153</sup> Mori T, Asano T, Town T. *Targeting S100B in Cerebral Ischemia and in Alzheimer's Disease*. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*. Artículo de revisión. 2010.
- <sup>154</sup> Van Eldik I.J., Wainwright M.S. *The Janus face of glial-derived S100B: beneficial and detrimental functions in the brain*. *Restor Naural Neurosci*, 2003; 21(3-4);97-108.
- <sup>155</sup> Van Eldik I.J., Wainwright M.S. *The Janus face of glial-derived S100B: beneficial and detrimental functions in the brain*. *Restor Naural Neurosci*, 2003; 21(3-4);97-108.
- <sup>156</sup> P. Biberthaler,U. Linsenmeier,K.J. Pfeifer,M. Kroetz,T. Mussack,K.G. Kanz. *Serum S-100B concentration provides additional information for the indication of computed tomography in patients after minor head injury: A prospective multicenter study*. *Shock.*, 25 (2006), pp. 446-453 <http://dx.doi.org/10.1097/01.shk.0000209534.61058.35>.
- <sup>157</sup> J.J. Egea-Guerrero,J. Revuelto-Rey,F. Murillo-Cabezas,M.A. Muñoz-Sánchez,A. Vilches-Arenas,P. Sánchez-Linares. *Accuracy of the S100 $\beta$  protein as a marker of brain damage in traumatic brain injury*. *Brain Inj*, 26 (2012), pp. 76-82 <http://dx.doi.org/10.3109/02699052.2011.635360>.
- <sup>158</sup> L.E. Pelinka,A. Kroepfl,M. Leixnering,W. Buchinger,A. Raabe,H. Redl. *GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: Relationship to brain damage and outcome*. *J Neurotrauma*, 21 (2004), pp. 1553-1561 <http://dx.doi.org/10.1089/neu.2004.21.1553>.
- <sup>159</sup> M.C. González-Mao,A. Repáraz-Andrade,V. del Campo-Pérez,E. Alvarez-García,C. Vara-Perez,M.A. Andrade-Olivié. *Model predicting survival/exitus after traumatic brain injury: Biomarker S100B 24h*. *Clin Lab*, 57 (2011), pp. 587-597.

- 
- <sup>160</sup> S. Korfiatis,G. Stranjalis,E. Boviatsis,C. Psachoulia,G. Jullien,B. Gregson. *Serum S-100B protein monitoring in patients with severe traumatic brain injury*. Intensive Care Med, 33 (2007), pp. 255-260 <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-006-0463-4>.
- <sup>161</sup> F. Murillo-Cabezas,M.A. Muñoz-Sánchez,M.D. Rincón-Ferrari,J.F. Martín-Rodríguez,R. Amaya-Villar,S. García-Gómez, *The prognostic value of the temporal course of S100beta protein in post-acute severe brain injury: A prospective and observational study*. Brain Inj, 24 (2010), pp. 609-619 <http://dx.doi.org/10.3109/02699051003652823>.
- <sup>162</sup> Delgado P<sup>1</sup>, Alvarez Sabin J, Santamarina E, Molina CA, Quintana M, Rosell A, Montaner J. *Plasma S100B level after acute spontaneous intracerebral hemorrhage*. Stroke. 2006 Nov;37(11):2837-9. Epub 2006 Sep 28.
- <sup>163</sup> Sanchez-Peña P ,Pereira AR, Sourour NA, Biondi A, Lejean L . *S100B as an additional prognostic marker in subarachnoid aneurysmal hemorrhage* Crit Care Med. 2008 Aug;36(8):2267-73.
- <sup>164</sup> Mori T, Asano T, Town T. *Targeting S100B in Cerebral Ischemia and in Alzheimer's Disease*. Cardiovascular Psychiatry and Neurology. Artículo de revisión. 2010.
- <sup>165</sup> Calik M, Abuhandan M, Sonmezler A, Kandemir H, Oz I, Taskin A, Selek S, Iscan A. *Elevated serum S-100B levels in children with temporal lobe epilepsy*. Seizure. 2013 Mar;22(2):99-102.
- <sup>166</sup> Calik M, Abuhandan M, Kandemir H, Güzel B, Solmaz A, Celik H. *Interictal serum S-100B protein levels in intractable epilepsy: a case-control study*. [Neurosci Lett](#). 2014 Jan 13;558:58-61.
- <sup>167</sup> Calik M, Ciftci A, Sarikaya S, Kocaturk O, Abuhandan M. *Assessment of both serum S-100B protein and neuropeptide-Y levels in childhood breath-holding spells*. [Epilepsy Behav](#). 2015 Jun;47:34-8.

- <sup>168</sup> N. Nagdyman, W. Komen, H.K. Ko, C. Muller, M. Obladen. *Early biochemical indicators of hypoxic–ischemic encephalopathy after birth asphyxia*. *Pediatr Res*, 49 (2001), pp. 502–506.
- <sup>169</sup> Bennet L<sup>1</sup>, Booth L, Gunn AJ. *Potential biomarkers for hypoxic-ischemic encephalopathy*. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2010 Oct;15(5):253-60. doi: 10.1016/j.siny.2010.05.007. Epub 2010 Jun 19.
- <sup>170</sup> Zhang LY, Li Y, Jin MF. *Diagnostic values of neopterin and S100b for central nervous system infections in children*. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2014 Apr; 16(4):380-3.
- <sup>171</sup> Rohlwick UK, Figaji AA. *Biomarkers of brain injury in cerebral infections*. *Clin Chem*. 2014 Jun; 60(6):823-34. Epub 2013 Oct 29.
- <sup>172</sup> Peng QL, Tao SH, Yu N, Zhou XZ, Peng YZ, Fu N. *Elevated levels of cerebrospinal fluid S100B are associated with brain injury and unfavorable outcomes in children with central nervous system infections*. *Int J Neurosci*. 2017 Jan; 127(1):1-9. Epub 2016 Jan 25.
- <sup>173</sup> Petzold A, Eikelenboom MJ, Gveric D, Keir G, Chapman M, Lazeron RH, Cuzner ML, Polman CH et al (2002) *Markers for different glial cell responses in multiple sclerosis: clinical and pathological correlations*. *Brain* 125(Pt 7):1462–1473.
- <sup>174</sup> Bartosik-Psujek H, Psujek M, Jaworski J, Stelmasiak Z (2011) *Total tau and S100b proteins in different types of multiple sclerosis and during immunosuppressive treatment with mitoxantrone*. *Acta Neurol Scand* 123(4):252–256.doi:10.1111/j.1600-404.2010.01393CrossRefPubMedGoogle Scholar.

<sup>175</sup> ...

- 
- <sup>176</sup> Barateiro, A., Afonso, V., Santos, G. et al. *S100B as a Potential Biomarker and Therapeutic Target in Multiple Sclerosis*. Mol Neurobiol (2016) Aug;53(6):3976-91. doi: 10.1007/s12035-015-9336-6. Epub 2015 Jul 17.
- <sup>177</sup> Aleksovskaja K1, Leoncini E1, Bonassi S2, Cesario A3, Boccia S1, Frustaci A2. *Systematic review and meta-analysis of circulating S100B blood levels in schizophrenia*. [PLoS One](#). 2014 Sep 9;9(9):e106342. doi: 10.1371/journal.pone.0106342. eCollection 2014.
- <sup>178</sup> Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, et al. *S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal*. Biochim Biophys Acta. 2008;1793:1008–22.
- <sup>179</sup> Riesco, N., Cernuda-Morollón, E. & Pascual, J. *Neuropeptides as a Marker for Chronic Headache*. Curr Pain Headache Rep. 2017 Apr;21(4):18. doi: 10.1007/s11916-017-0618-8. Review.
- <sup>180</sup> A. Petzold, R. Jenkins, H. Watt, A. Green, E. Thompson, G. Keir, et al. *Cerebrospinal fluid S100B correlates with brain atrophy in Alzheimer's disease*. Neurosci Lett, 336 (3) (2003), pp. 167–170.
- <sup>181</sup> G.S. Mazzini, D.V. Schaf, A.R. Oliveira, et al. *The ischemic rat heart releases S100B*. Life Sci, 77 (2005), pp. 882–889.
- <sup>182</sup> S.A. Snyder-Ramos, T. Gruhlke, H. Bauer, et al. *Cerebral and extracerebral release of protein S100B in cardiac surgical patients*. Anaesthesia, 59 (2004), pp. 344–349.
- <sup>183</sup> J.N. Tsoporis, F. Mohammadzadeh, T.G. Parker. *S100B: a multifunctional role in cardiovascular pathophysiology*. Amino Acids (Mar. 4 2010).
- <sup>184</sup> S.T. Pleger, P. Most, H.A. Katus. *S100 proteins: a missing piece in the puzzle of heart failure?* Cardiovasc Res, 75 (2007), p. 1-1

- <sup>185</sup> Wilcock DM<sup>1</sup>, Griffin WS. *Down's syndrome, neuroinflammation, and Alzheimer neuropathogenesis*. J Neuroinflammation. 2013 Jul 16;10:84. doi: 10.1186/1742-2094-10-84.
- <sup>186</sup> Kartal A, Yilmaz S, Yaka E, Pekdemir M, Sarısoy H, Yüksel M, et al. *Diagnostic Value of S100B Protein in the Differential Diagnosis of Acute Vertigo in the Emergency Department*  
*El Valor Diagnóstico de la Proteína S100B en el Diagnóstico Diferencial del Vértigo Agudo en el Servicio de Urgencias*. Academic Emergency Medicine [serial on the Internet]. (2014, July), [cited March 28, 2017]; 21(7): 736.
- <sup>187</sup> Li R, Xia W, Zhang Z, Wu K (2011) *S100B Protein, Brain-Derived Neurotrophic Factor, and Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor in Human Milk*. PLOS ONE 6(6): e21663. doi: 10.1371/journal.pone.0021663.
- <sup>188</sup> Gazzolo D, Bruschetti M, Lituania M, Serra G, Santini P, et al. (2004) *Levels of S100B protein are higher in mature human milk than in colostrum and milk-formulae milks*. Clin Nutr 23: 23–6.
- <sup>189</sup> Van Biesen S. et al. *Anesthesia and neurotoxicity in the developing brain: a non-systematic review*. Acta Anaesthesiol. Belg. 66(3), 67-79, 2015.
- <sup>190</sup> Hansen et al. *Anaesthesia-related neurotoxicity and the developing animal brain is not a significant problem in children*. Paediatr Anaesth. 25, 65-72, 2015.
- <sup>191</sup> Lunardi N et al. *General anesthesia causes long-lasting disturbances in the ultrastructural properties of developing synapses in rats*. Neurotox Res 2010;17:179-88).
- <sup>192</sup> Michenfelder JD, Sundt TM, Fode N, Sharbrough FW. *Isoflurane when compared to enflurane and halothane decreases the frequency of cerebral ischemia during carotid endarterectomy*. Anesthesiology. 1987 Sep;67(3):336-40.

- <sup>193</sup> Hoffman WE<sup>1</sup>, Charbel FT, Edelman G, Ausman JI. *Thiopental and desflurane treatment for brain protection*. Neurosurgery 1998 Nov;43(5):1050-3.
- <sup>194</sup> Kanbak, M., Saricaoglu, F., Avci, A. et al. Can J Anesth (2004) 51: 712.
- <sup>195</sup> J Cardiothorac Vasc Anesth. 2007 Oct;21(5):690-5. Epub 2007 Mar 6.
- <sup>196</sup> Schoen J<sup>1</sup>, Husemann L, Tiemeyer C, Lueloh A, Sedemund-Adib B, Berger KU, Hueppe M, Heringlake M. Department of Anesthesiology, University of Luebeck, Ratzeburguer.. *Cognitive function after sevoflurane- vs propofol-based anaesthesia for on-pump cardiac surgery: a randomized controlled trial*. Br J Anaesth 2011 Jun;106(6):840-50.
- <sup>197</sup> Dabrowski W<sup>1</sup>, Rzecki Z, Czajkowski M, Pilat J, Wacinski P, Kotlinska E, Sztanke M, Sztanke K, Stazka K, Pasternak K. ) *Volatile anesthetics reduce biochemical markers of brain injury and brain magnesium disorders in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery*. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2012 Jun;26(3):395-402.
- <sup>198</sup> Williams-Russo P<sup>1</sup>, Sharrock NE, Mattis S, Szatrowski TP, Charlson ME. *Cognitive effects after epidural vs general anesthesia in older adults. A randomized trial*. JAMA. 1995 Jul 5;274(1):44-50.
- <sup>199</sup> Bohnen NI<sup>1</sup>, Warner MA, Kokmen E, Beard CM, Kurland LT. *Alzheimer's disease and cumulative exposure to anesthesia: a case-control study*. J Am Geriatr Soc. 1994 Feb;42(2):198-20.
- <sup>200</sup> Wilder RT<sup>1</sup>, Flick RP, Sprung J, Katusic SK, Barbaresi WJ, Mickelson C, Gleich SJ, Schroeder DR, Weaver AL, Warner DO. *Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort*. Anesthesiology. 2009 Apr;110(4):796-804.

- <sup>201</sup> Charles DiMaggio, PhD, Lena Sun, MD, and Guohua Li, MD, *DrPH Early Childhood Exposure to Anesthesia and Risk of Developmental and Behavioral Disorders in a Sibling Birth Cohort*. *Anesth Analg*. 2011 Nov; 113(5): 1143–1151.
- <sup>202</sup> Sun LS, Li G, Miller TLK, Salorio C, Byrne MW, Bellinger DC, Ing C, Park R, Radcliffe J, Hays SR, DiMaggio CJ, Cooper TJ, Rauh V, Maxwell LG, Youn A, McGowan FX. Association Between a Single General Anesthesia. *Exposure Before Age 36 Months and Neurocognitive Outcomes in Later Childhood*. *JAMA*. 2016;315(21):2312-2320.
- <sup>203</sup> Mesa Suárez P, Santotoribio JD, Ramos Ramos V, González García MÁ, Pérez Ramos S, Portilla Huerta D, et al. *Brain damage after general anesthesia*. *Med Clin (Barc)*. 2016; 146:384–8.



