

**BIOMARCADORES
DE DAÑO CEREBRAL POSTANESTÉSICO
EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA**

Departamento de Pediatría y Puericultura



Universidad de Granada

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Pablo Mesa Suárez
ISBN: 978-84-9125-792-9
URI: <http://hdl.handle.net/10481/43624>

**BIOMARCADORES
DE DAÑO CEREBRAL POSTANESTÉSICO
EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA**

**Proteína S100B como marcador de daño cerebral postanestesia
general**

**D. Pablo Mesa Suárez
Tesis Doctoral de la Universidad de Granada
Año 2015**

**Directores:
Dr. D. Antonio Muñoz Hoyos
Dr. D. José D. Santotoribio Camacho**

Departamento de Pediatría y Puericultura

**Dedicado a mis padres,
Francisco y Ascensión.**

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero dar las gracias a los padres de todos los niños y niñas que han aceptado formar parte de este estudio. Sin su generosidad no podría haber redactado ni si quiera este párrafo.

En segundo lugar, agradecer a mis dos directores de tesis, el Doctor José Diego Santotoribio y el Doctor Antonio Muñoz Hoyos, todo el asesoramiento que me han brindado.

En tercer lugar, a todos los miembros de los servicios de Anestesiología, y más en concreto a las personas: Jaime Estudillo, médico residente de Anestesiología que ha colaborado, junto a las doctoras Beatriz Bornay y María del Rosario Coveñas y junto al personal de Enfermería , Adela Serrano, Rafaela Boi, Juan José Reina, Esther Fernández y Pepa Sorá y la auxiliar de clínica Pilar Galindo, en el trabajo de campo, del día a día, con la recogida de las muestras; a mi director de Unidad de Gestión Clínica, David Portilla Huertas, a la directora de la Unidad de Gestión Clínica de Otorrinolaringología, Eulalia Porras , y a los directores de Unidad de Bioquímica, tanto del Hospital de Puerto Real como del Hospital de Jerez, donde se procesaron las muestras. Todas estas personas, y otras que seguro no menciono por olvido, han ayudado al no poner ni el más mínimo impedimento en el desarrollo de este trabajo.

En cuarto lugar, agradecer a la Comisión de Investigación y Ética del Hospital Universitario de Puerto Real, al Departamento de Pediatría y a la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Granada, por hacer que todos los trámites pareciesen sencillos.

En quinto y último lugar, aunque debería haber sido en el primero, a mi esposa, María Victoria, por animarme en todo momento, por entusiasmarse con mis proyectos y por regalarme muchas horas para poder dedicarme a la elaboración de esta tesis.

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

y **Dr. José Diego Santotoribio Camacho**, Facultativo Especialista del Area de Bioquímica del Servicio de Laboratorio del Hospital Universitario de Puerto Real (Cádiz)

CERTIFICAN: Que D Pablo Mesa Suárez, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado su Trabajo de Investigación Proyectivo para la confección de la Memoria de TESIS DOCTORAL, bajo nuestra dirección sobre el tema: **BIOMARCADORES DE DAÑO CEREBRAL POSTANESTÉSICO EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA**, la que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido leída y revisada la presente y estando conforme para su presentación para ser juzgada.

Prof Dr D A. Muñoz Hoyos

Dr D José Diego Santotoribio Camacho

En Granada, Febrero de 2016

Primum non nocere

ABREVIATURAS

Bax: Bcl Associated X-protein

Bcl-2: b-cell lymphoma 2

BIS: Índice Biespectral

CAM: Concentración alveolar mínima

d.c: Después de Cristo

DAMP: Damage Associated Molecular Pattern

FGF: Flujo de gas fresco

FSC: Flujo sanguíneo cerebral

EEG: Electro encefalograma

EMG: Electromiograma

GABA: Ácido gamma aminobutírico

IC: Intervalo de confianza

i.v: Intravenoso

kda: Kilodalton

kg: Kilogramo

mg: Miligramos

ml: Mililitros

µg/L: Microgramos por litro

ng/L: Nanogramos por litro

NMDA: N-metil-d-aspartato

PIGs: p 53 Induced Genes

pm: Peso molecular

RAE: Real Academia de la Lengua

RAGE: Receptor for Advanced Glycation End-products

RI: Rango intercuartílico

SD: Desviación estandar

SN: Sistema nervioso

SNC: Sistema nervioso central

SNP: Sistema nervioso periférico

TCE: Traumatismo Craneoencefálico

VPP: Valor Predictivo Positivo

GAS study: General Anaesthesia Study

PANDA study: Pediatric Anesthesia & Neurodevelopment Assessment

MASK study: Mayo Anesthesia Safety in Kids

FDA: Food and Drug Administration

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	14
1. Conceptos en anestesia	
1.1 Definición e historia de la anestesia	14
1.2 Agentes inhalatorios	19
1.3 Agentes intravenosos	21
2. Daño neuronal	35
2.1 Desarrollo del sistema nervioso central	35
2.2 Apoptosis neuronal	39
3. Magnitud bioquímica del daño cerebral	46
3.1 Proteína S 100 B: generalidades	46
3.2 Proteína S 100 B: contextos clínicos	56
3.2.1 Parada cardiorespiratoria	56
3.2.2 Traumatismo craneoencefálico	56
3.2.3 Accidente cerebrovascular	57
3.2.4 Epilepsia	59

3.2.5 Encefalopatía hipóxica isquémica	60
3.2.6 Tumores del SNC	62
3.2.7 Esclerosis Múltiple	63
3.2.8 Esquizofrenia	64
3.2.9 Migraña	64
3.2.10 Enfermedad de Alzheimer	65
II. HIPÓTESIS	66
III. OBJETIVOS	67
1. Objetivo principal	
2. Objetivos secundarios	
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	
1. Informe de la comisión de investigación y ética	68
2. Ámbito del estudio	69
3. Características de la población estudiada	71
4. Criterios de inclusión y exclusión	72
5. Métodos clínicos:	73
5.1. Relación y definición de las variables	
5.2. Procedimientos y técnicas	77
6. Métodos analíticos	85

7. Métodos estadísticos	86
8. Cronograma del proyecto	89
V. RESULTADOS	90
1. Estadística descriptiva	91
2. Estadística Inferencial	98
2.1 Test de Correlación	98
2.2 Test de Asociación	102
VI. DISCUSIÓN	103
1. Modelos animales	103
2. Estudios en humanos	104
3. Nuestros resultados	109
VII. CONCLUSIONES Y PUNTOS CLAVES	118
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
IX. ANEXOS	143
1. Consentimiento informado para los padres	143
2. Difusión	144

I. INTRODUCCIÓN

1. CONCEPTOS EN ANESTESIA

1.1 Definición e historia de la anestesia

Una de las primeras definiciones del **concepto ANESTESIA** fue la siguiente: proporcionar algún grado de inconsciencia a un paciente para que un cirujano veloz pueda resolver un proceso patológico.

La palabra anestesia tiene su origen etimológico en la palabra griega anaesthesia compuesta por el prefijo “an” que significa “sin” y por “aesthesia” que se traduce como “sensación”.⁽¹⁾ La definición actual de la palabra según la RAE: *“Falta o privación general o parcial de la sensibilidad, temporal, ya sea por efecto de un padecimiento, ya sea artificialmente producida”*.⁽²⁾

Para los profesionales que nos dedicamos a la anestesia, éste es un concepto mucho más amplio. Sus orígenes se remontan a épocas anteriores al cristianismo, cuando ya se utilizaban la adormidera, la mandrágora y el cannabis con el fin de aliviar el dolor y producir sopor. Ya por los años 460-377 a.C. Hipócrates usó la “esponja soporífera” impregnada en opio, beleño y mandrágora para permitir la cirugía.

Fue en el siglo I d.C. cuando el médico griego Dioscórides usó la palabra anestesia exactamente tal y como la conocemos en la actualidad. Describió el uso de la planta mandrágora, que resulta contener un alcaloide similar a la atropina, para conseguirlo.

Los egipcios utilizaron una combinación de amapola e hyoscyamus con el mismo objetivo. Esta última planta, el hyoscyamus, es conocida en la región mediterránea como beleño y ha recibido nombres como flor loca, adormidera de zorra o flor de la muerte. ⁽³⁾

Otras técnicas antiguas desarrolladas con fines "anestésicos" fueron la ingesta de alcohol o la masticación de hojas de coca. En algunas ocasiones se llegó a practicar una flebotomía para lograr la pérdida de consciencia.



Figura 1: Mandrágora, dibujo y relato

La evolución natural de la anestesia comienza con la anestesia inhalatoria. En el año 1540 se descubrió el éter, aunque no fue hasta 1846 cuando se empleó en Boston como agente anestésico. El cloroformo y el óxido nitroso aparecieron casi de manera simultánea. El primero de ellos se utilizó para aliviar el dolor del parto y el segundo, en 1868, mezclado con oxígeno al 20%, como agente anestésico. El cloroformo cayó en desuso por la aparición de problemas clínicos como arritmias cardíacas severas, fallos hepáticos graves y episodios de depresión respiratoria. El óxido nitroso sin embargo ha seguido en uso hasta la fecha.

En el siglo XVIII los británicos comenzaron a utilizar el término *anestesia* para definir a un estado de defecto en las sensaciones o de privación de los sentidos. En el año 1846 aparece una definición de O.W Holmes donde habla de un efecto similar al sueño gracias al cual se puede llevar a cabo una cirugía de manera indolora. ⁽⁴⁾

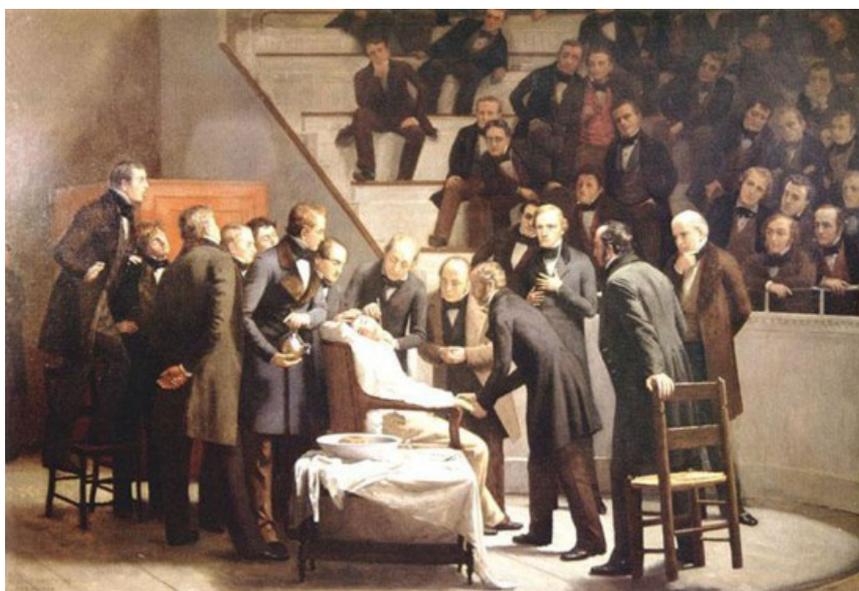


Figura 2. Massachusetts, 1846. Utilización del éter.

En 1934 apareció el ciclopropano que, al igual que el éter, era altamente combustible. Ya en 1956 se inicia el ciclo de los hidrocarburos fluorados con el halotano, que ha ido mejorando hasta disponer hoy en día de desflurano (1992) y de sevoflurano (1994).



Figura 3. Vaporizadores para agentes anestésicos inhalatorios

En el año 1851 el odontólogo Gabriel Pravaz terminó de diseñar la jeringa tal y como la conocemos actualmente. En 1855, el médico escocés Alexander Wood, definió su uso para la administración de drogas intravenosas. ⁽⁵⁾ Comenzó entonces el desarrollo de agentes anestésicos intravenosos, siendo el primero de ellos el hidrato de cloral, que apareció en 1872. A éste le siguieron el éter y el cloroformo intravenosos (1909), la morfina y la escopolamina (1916), y en 1927 hace aparición el barbital. A partir de ese momento se sintetizan fármacos que siguen teniendo utilidad hoy en día: (1932, tiopental; 1959, diazepam; 1970, ketamina; 1972, etomidato; 1976, midazolam; 1989, propofol).

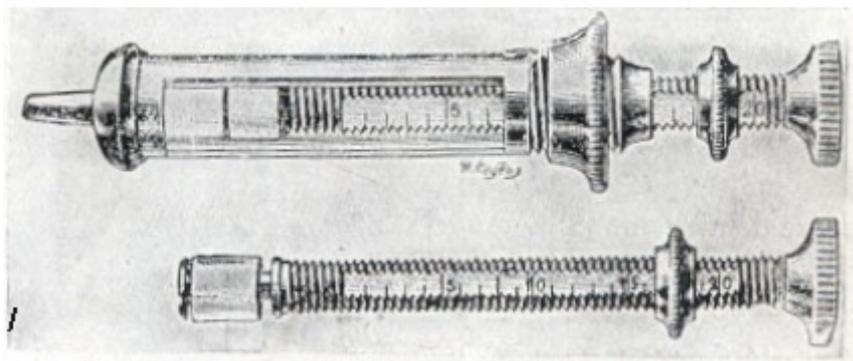


Figura 4. Jeringa antigua de cristal

La introducción de relajantes musculares (curares y succinilcolina) y de opioides (morfina, meperidina y fentanilo) en torno a los años 1940-1970, completan el abanico de fármacos utilizados durante el acto anestésico y nos permiten entender la idea de la anestesia moderna. No solo existe una pérdida de la consciencia, sino que le presentamos al cirujano a un paciente inconsciente e inmóvil. A éste último, además, le proporcionamos un buen control del dolor, amnesia de lo que le ha acontecido y un control de las posibles respuestas de su sistema nervioso autónomo. ⁽⁶⁾ A modo de resumen de la trayectoria del concepto y de la farmacología anestésica, podemos aclarar ideas con el siguiente mapa conceptual

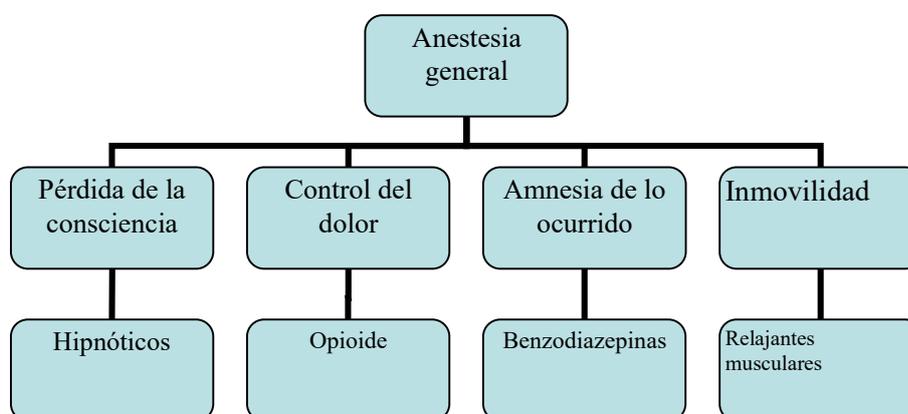


Figura 5. Objetivos de la anestesia general

1.2 Agentes inhalados

Los **hipnóticos inhalados** son fármacos en estado gaseoso cuya ventaja es la capacidad de alcanzar el torrente circulatorio a través de los pulmones; eso les otorga un tiempo de acción muy corto, lo que proporciona un amplio margen de seguridad y eficiencia. Realmente los agentes anestésicos inhalatorios son líquidos que al someterse a grandes temperaturas se convierten en vapor. Este "gas", realmente un vapor, es lo que inhala el paciente. Los únicos anestésicos que sí se ofrecen en forma de gas, no en líquido, son el xenón y el óxido nitroso.

Cuando estos fármacos se inhalan, llegan al tejido alveolar de los pulmones, atraviesan la membrana alveolocapilar y pasan, por difusión pasiva, a la circulación venosa pulmonar. Definimos como fase de equilibrio al momento en el cual la presión parcial de éstos en el sistema nervioso central es igual a la presión parcial sanguínea, y ésta a su vez igual a la alveolar. A partir de este momento se produce su efecto clínico.

Podemos determinar éste momento mediante la utilización de la medida de la CAM (concentración alveolar mínima). Se define como la concentración alveolar de un anestésico a 1 atmósfera de presión y a 37°C de temperatura, que previene el movimiento ante estímulos quirúrgicos en el 50% de los pacientes. ⁽⁷⁾ La CAM aparece expresada como un dígito en la pantalla principal de las máquinas de anestesia y se obtiene mediante un sensor de gases colocado en la rama espiratoria de las tubuladuras que conectan al paciente con el respirador. Cada agente anestésico tiene su CAM específica, que correspondería a su "dosis". La adición de otros agentes anestésicos como benzodiazepinas u opioides hacen que la

necesidad de agente inhalatorio disminuya; por lo tanto, podamos trabajar con CAM más baja. Por ejemplo, la CAM del sevoflurano es de 2, pero llegamos a bajarla a 0.6 cuando utilizamos remifentanilo en perfusión continua.

A nivel del sistema nervioso central (SNC) producen inconsciencia y amnesia a concentraciones inspiratorias relativamente bajas, una vez alcanzada la fase de equilibrio entre la presión alveolar y la arterial. Sus efectos son dosis-dependiente, ocasionando una depresión de la actividad electroencefalográfica, aumentando el flujo sanguíneo cerebral, por su efecto vasodilatador, y disminuyendo la tasa metabólica cerebral. ⁽⁸⁾

El **sevoflurano** es un agente anestésico líquido, químicamente corresponde a un halogenado con flúor, que sometido a altas presiones se convierte en un gas. Para conseguir esto se emplean vaporizadores, que van anclados a las máquinas de anestesia y son específicos para cada agente anestésico. Es de esta manera como se vehiculiza, a través de un sistema de tubuladuras, hacia el paciente, mezclado con aire y oxígeno, constituyendo esta mezcla el denominado flujo de gas fresco (FGF). Una vez alcanza el pulmón, difunde rápidamente a la sangre, traduciéndose esto en un rápido inicio de su efecto clínico (aproximadamente , 1 minuto). Esta misma solubilidad es la que hace que, una vez detenido su suministro en el gas fresco, el efecto clínico desaparezca. Es un fármaco con muy buena tolerancia, su olor es agradable y no produce tos. A nivel respiratorio, este agente anestésico produce una ligera depresión respiratoria, aunque el paciente es capaz de permanecer en respiración espontánea. Produce cierto grado de broncodilatación. A nivel cardiovascular, deprime levemente la contractilidad miocárdica y disminuye las resistencias vasculares periféricas, lo que se traduce en una posible disminución de la tensión arterial. Este agente

está contraindicado en pacientes con hipertensión intracraneal, hipovolemia severa y/o antecedentes de hipertermia maligna. Desde el punto de vista práctico, se puede administrar desde el inicio de la intervención o, después de la pérdida de consciencia, con un agente intravenoso. En el caso del sevoflurano, el valor de la CAM es de 2 cuando el FGF es con oxígeno al 100%.⁽⁹⁾

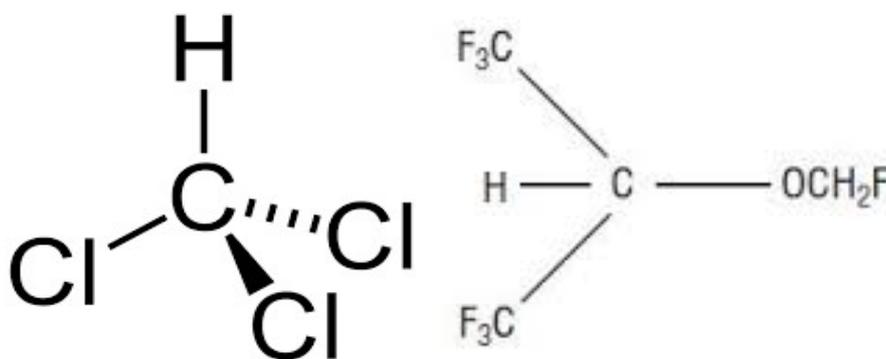


Figura 6. Cloroformo y sevoflurano.

1.3 Agentes intravenosos

Los hipnóticos intravenosos son sedantes que producen una depresión del SNC dependiente de la dosis. Se trata de un heterogéneo grupo de fármacos que comparten en común que, la mayoría, ejercen sus efectos mediante la interacción con el neurotransmisor ácido γ -aminobutírico (GABA). La activación del complejo GABA-receptor aumenta la conductancia de cloruro, lo que causa hiperpolarización e inhibición funcional de la neurona postsináptica. A este grupo pertenecen las benzodiacepinas, barbitúricos, propofol, ketamina y etomidato.

Las benzodiacepinas aumentan la eficiencia de la interacción entre GABA y receptor en las neuronas de la corteza cerebral. Los barbitúricos y el propofol parecen disminuir la disociación del complejo GABA-receptor. El etomidato aumenta el tono inhibitor del GABA. Los efectos de la ketamina están más relacionados con su actividad antagonista con el receptor N-metil-D-aspartato (NMDA).

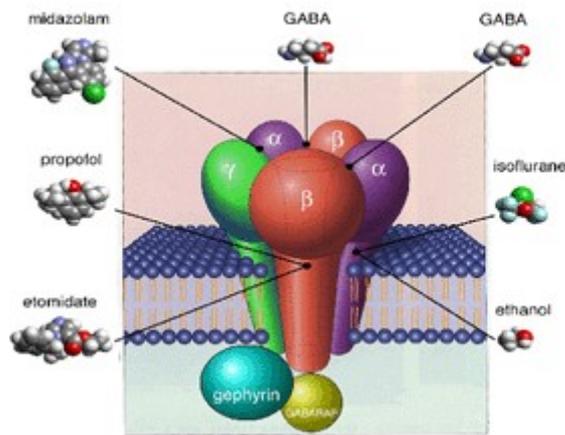


Figura 7. Receptor del GABA

El efecto rápido de la mayoría de los anestésicos administrados por vía intravenosa puede explicarse por su elevada liposolubilidad, lo que en presencia de una adecuada perfusión cerebral consigue una rápida distribución en el compartimento central.

El principal efecto farmacodinámico de estos fármacos es producir la depresión del SNC de forma dosis-dependiente, lo que tiene su manifestación clínica en forma de sedación e hipnosis. Cuando se alcanzan concentraciones estables en el plasma podemos suponer que esta concentración se encuentra en equilibrio con la concentración en su lugar de acción, el SNC.

La mayoría de los hipnóticos (excepto la Ketamina) producen una disminución del consumo cerebral del oxígeno, del flujo sanguíneo cerebral y por consiguiente también reducen la presión intracraneal. También excluyendo a la ketamina, el resto produce una depresión ventilatoria dependiente de la dosis. ⁽¹⁰⁾

El propofol es quizás hoy en día el hipnótico intravenoso más universalmente empleado. Se presenta como una emulsión lipídica al 1%, es decir, que 1 mililitro (ml) de producto contiene 10 miligramos (mg) de medicamento. Se administra a través de una vía venosa a dosis de 2-2,5 mg por cada kilogramo (kg) de peso del paciente. El tiempo que tarda el paciente en perder la consciencia, el denominado tiempo brazo-cerebro, es de unos 30 segundos y la duración del efecto clínico tras la administración de una única dosis es de unos 8 minutos. Dentro de sus características favorables están el que tiene un cierto efecto antiemético y que no altera la motilidad intestinal. A nivel cardiovascular, y al igual que la gran mayoría de los fármacos anestésicos, deprime la función respiratoria, disminuye la contractilidad miocárdica y las resistencias vasculares periféricas. Con respecto al sistema nervioso central (SNC), también baja ligeramente el flujo sanguíneo cerebral (FSC) y su metabolismo. ⁽¹¹⁾

Tanto los anestésicos inhalados como los intravenosos tienen un efecto clínico igual, la pérdida de la consciencia. Existen diversas teorías que intentan demostrar sus mecanismos de acción pero quizás ninguna de ellas sea válida al 100%. Lo que sí se conoce es que la unión de los anestésicos a las membranas de las neuronas produce cambios estructurales seguidos de alteraciones en múltiples sistemas celulares que terminan alterando la función sináptica. Algunos de los hechos bien conocidos son la activación de los receptores

nicotínicos de la acetilcolina, de los receptores del N-metil-D- aspartato (NMDA) y los receptores del ácido gamma amino butírico (GABA) y, como veremos más adelante, la gran interrelación entre las neuronas, los astrocitos y los neurotransmisores.

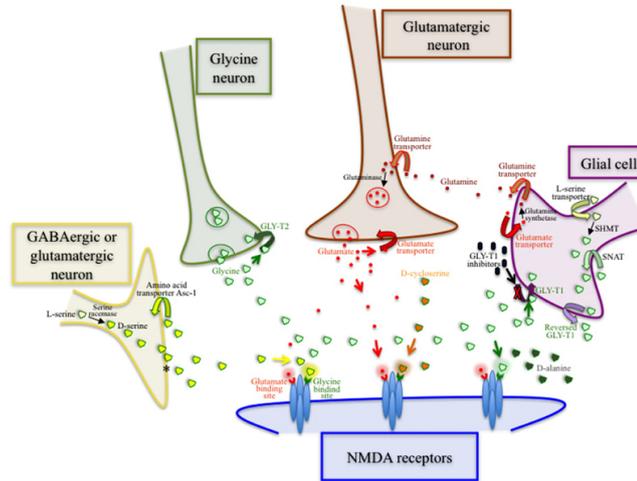


Figura 8. Receptores GABA y NMDA

El **midazolam** es una de las benzodiazepinas más empleadas en la premedicación anestésica por su capacidad para producir amnesia anterógrada: el paciente no recordará nada de lo que ocurra desde el momento de su administración. Es un fármaco utilizado como ansiolítico, que se administra por vía intravenosa (IV), oral o intranasal, a dosis que varían desde 0,01 mg/kg hasta 0,2 mg/kg. En este rango de dosis obtenemos efectos ansiolíticos, sedantes y amnésicos. A nivel respiratorio, su efecto clínico más preocupante es la depresión respiratoria que ocurre cuando se administran dosis excesivamente elevadas o en asociación con otros hipnóticos y opioides (efecto sinérgico). En el aparato cardiovascular, los efectos cardiodepresores son mínimos, tanto de la presión arterial como en la frecuencia cardíaca.

Igual que los hipnóticos, los efectos en el SNC son de disminución del FSC y presión intracraneal. ⁽¹²⁾

La **morfina, meperidina, fentanilo, sufentanilo, alfentanilo y remifentanilo**, son los opioides más usados en la anestesia general. Su efecto principal es la analgesia, que consiguen mediante la interacción con receptores opioides específicos del cerebro y de la médula espinal. El sistema opioide endógeno incluye las endorfinas, encefalinas y dinorfinas, péptidos endógenos que interaccionan con los receptores opioides, (μ , κ , δ) con diferentes grados de afinidad. Esta interacción da lugar a un mecanismo inhibitorio que modula de forma fisiológica las transmisiones nociceptivas. Estos receptores son el lugar de acción de los opioides que usamos, la activación de los mismos tiene como consecuencia una serie de efectos en distintos sistemas. A nivel del SNC, producen sedación y analgesia de forma dosis-dependiente y, con frecuencia, euforia. Disminuyen el flujo sanguíneo cerebral y el índice metabólico. A nivel cardiovascular, ofrecen bastante estabilidad hemodinámica convirtiéndolos en analgésicos de elección frente a pacientes críticos o con compromiso hemodinámico, pudiendo ser responsables de una bradicardia dependiente de la dosis, sin afectar la contractilidad cardíaca y con poca afectación de las cifras tensionales. Causan depresión respiratoria dosis-dependiente, además de miosis, aumento de las secreciones y disminución de la motilidad del tracto gastrointestinal. Pueden producir también rigidez muscular, relacionada con la potencia y la dosis del opioide usado. En cuando a la sedación y a la depresión respiratoria su efecto es sinérgico con el uso de hipnóticos.

El fentanilo es un opioide que se utiliza ampliamente en anestesia para brindar analgesia al paciente. Entre sus características farmacocinéticas: su gran liposolubilidad le confiere un inicio de acción de 2-5 minutos; su vida media es de unas 3-4 horas y su potencia

es de unas 100 veces la de la morfina. Estas características lo convierten en ideal para su uso en el intraoperatorio. En algunas ocasiones se asocia al midazolam en el preoperatorio inmediato para reforzar la ansiólisis o incluso para conseguir un nivel de sedación consciente antes de la anestesia general. Las dosis que habitualmente utilizamos para complementar la anestesia son de 1-3 microgramos (μg) por cada kg de peso del paciente. Como la gran mayoría de los opioides su acción ocurre al unirse a los receptores μ repartidos en el SNC y en la médula espinal (asta posterior). Al producirse esta unión en las neuronas nociceptoras ocurre una modificación en la conductancia de los canales de potasio y calcio de éstas neuronas y se inhibe la activación a los neurotransmisores excitatorios como la acetilcolina y la sustancia P. Como efectos secundarios podemos encontrar: náuseas y vómitos, íleo paralítico, bradicardia y depresión respiratoria. No son fármacos que depriman la contractilidad miocárdica y, si causan hipotensión, es leve. Entre otros efectos adversos tenemos la sudoración profusa, la euforia, y la temible adicción.⁽¹³⁾

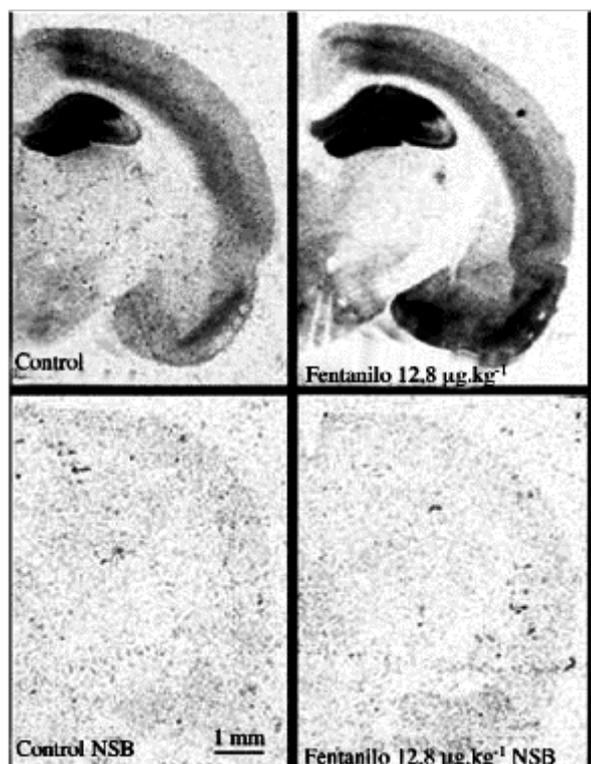


Figura 9: Autorradiogramas de córtex de ratas tras administración de solución salina y fentanilo

El efecto farmacológico principal de los **relajantes neuromusculares** es la interrupción de la transmisión del impulso nervioso en la unión neuromuscular mediante el antagonismo con el receptor nicotínico de la acetilcolina. Dentro de este grupo de fármacos, se diferencian en despolarizantes (succinilcolina) o no despolarizantes (atracurio, cisatracurio, pancuronio, rocuronio, vecuronio), en función de si inducen o no una despolarización de la membrana muscular después de unirse con su receptor. Esto hace que difieran en el tiempo de inicio de acción, duración del bloqueo, metabolismo, efectos secundarios e interacciones farmacológicas.⁽¹⁴⁾ La finalidad última del uso de este grupo de fármacos es la de lograr unas condiciones idóneas para la intubación traqueal, producir inmovilidad durante el acto quirúrgico y facilitar la ventilación mecánica. El bloqueo despolarizante se produce cuando el fármaco mimetiza la acción del neurotransmisor acetilcolina, se une al receptor y conduce a despolarización postsináptica. Dado que la succinilcolina no se degrada tan rápidamente como

la acetilcolina, la despolarización persiste y conduce a inexcitabilidad de la membrana muscular adyacente. Esta forma de relajación produce fasciculaciones antes de lograr la relajación muscular. El efecto termina cuando la succinilcolina es degradada por la colinesterasa plasmática, fenómeno que tiene lugar a los pocos minutos de su administración. Otros posibles efectos que podemos observar tras la utilización de este fármaco son arritmias por aumento de la frecuencia cardíaca y de la tensión arterial en adultos, mientras que en niños es más probable que se produzca una bradicardia sinusal o incluso parada. Por tanto, está muy recomendado premedicar a estos pacientes con atropina. Podemos apreciar también hiperpotasemia, aumento transitorio de la presión intraocular, de la presión intracraneal y del flujo sanguíneo cerebral.

El mecanismo de acción de los relajantes neuromusculares no despolarizantes se produce mediante la unión competitiva con una de las subunidades α de los receptores postsinápticos de acetilcolina; en condiciones normales la liberación de acetilcolina disminuye durante la estimulación repetida, ya que la reserva del neurotransmisor liberable se agota más rápidamente de lo que se repone. En presencia de estos fármacos, esta liberación disminuida produce un descenso progresivo de la respuesta musculoesquelética, con lo que hay ausencia de fasciculaciones.

La atropina es un fármaco anticolinérgico. Como pudimos leer en párrafos anteriores, los efectos “anestésicos” de la mandrágora y de la escopolamina son realmente efectos adversos de los anticolinérgicos: sedación y amnesia. Actualmente son un grupo de fármacos escasamente empleados en anestesia, a no ser que alguno de sus efectos secundarios resultara oportuno: sequedad de mucosas, disminución de la salivación, aumento de la frecuencia

cardíaca, o midriasis, por ejemplo. La mayoría de estos efectos se consiguen cuando la atropina se une a los receptores muscarínicos de la acetilcolina, impidiendo su activación. Estos fármacos pueden ser administrados por vía intramuscular IM ó IV. La dosis que habitualmente empleamos en anestesia es de 0,01 mg/kg de peso ⁽¹⁵⁾ Con este abanico de fármacos conseguimos hoy en día confeccionar para cada paciente la anestesia que necesite. Desechamos el concepto de una anestesia para cada tipo de intervención y nos esforzamos en conseguir una anestesia para cada tipo de paciente.

Pongamos como ejemplo el caso de un paciente adulto que se someterá a una intervención quirúrgica, como puede ser una colecistectomía laparoscópica. A su llegada al antequirófano, el paciente será premedicado con midazolam para disminuir su nivel de ansiedad y temor a la situación. Además, aprovecharemos su efecto amnésico para que no recuerde nada desagradable de la intervención. Cuando lo pasemos al interior del quirófano, y tras una monitorización estándar de sus funciones vitales (frecuencia cardíaca y, electrocardiograma continuo, saturación de oxígeno con pulsioximetría y tensión arterial no invasiva), le administraremos un fármaco para hacerle perder la consciencia (hipnosis). Generalmente, utilizaremos el propofol intravenoso. Además, le administraremos una primera dosis intravenosa de fentanilo para controlar el dolor de la cirugía. Si la frecuencia cardíaca está por encima de 60 latidos por minuto, y al tratarse de una laparoscopia, no utilizaremos atropina, aunque la dejaremos preparada por si al insuflar el neumoperitoneo se produce una bradicardia por estimulación vagal tras la distensión peritoneal. Tras comprobar una correcta ventilación mediante la observación de la curva de dióxido de carbono en aire espirado, procederemos a la relajación muscular con rocuronio y a la intubación orotraqueal. Este manejo anestésico que he presentado corresponde a un tipo de anestesia denominada

Anestesia Balanceada, donde utilizamos una combinación de fármacos para un único fin, el confort del paciente.

Con el rápido desarrollo que ha experimentado la medicina en estas últimas décadas, las indicaciones quirúrgicas a procesos patológicos en pacientes pediátricos han crecido enormemente. El desafío que ha supuesto para los anestesiólogos abordar a éstos pacientes ha hecho que se establezcan rutinas de manejo anestésico que difieren en algunos aspectos de las del paciente adulto. Además de las necesidades quirúrgicas, el paciente pediátrico, por sus circunstancias normales, puede ser poco colaborador, necesitando de sedación o anestesia para la realización de procedimientos diagnósticos o terapéuticos, más o menos invasivos.⁽¹⁶⁾

Aunque el fin del manejo anestésico en niños es el mismo que el del adulto, brindar confort, debemos entender que existen peculiaridades. La primera de ellas es la no posibilidad de acceso venoso inmediato en los niños. Muchos de los niños que llegan a quirófano no tienen canalizada una vía venosa. Aquí el sevoflurane ha supuesto un gran avance. La inhalación de éste hipnótico a dosis altas (8%) durante 1 minuto produce la pérdida de consciencia del niño, sin que este llegue a perder su patrón de respiración espontánea. A partir de este momento, ya disponemos de tiempo y de las situaciones adecuadas (inmovilidad) para la canalización de una vía venosa. A través de ella administraremos los fármacos necesarios según el procedimiento que se vaya a llevar a cabo. Para la realización de pruebas diagnósticas o terapéuticas que no generen dolor y que solo requieran inmovilidad podemos seguir administrando sevoflurano a una dosis más baja que la de la inducción anestésica (2,5%) con un FGF que contenga además aire y oxígeno. Como ya disponemos de una vía i.v también podríamos emplear propofol en perfusión i.v continua consiguiendo el mismo efecto.

Si la técnica o la intervención generara dolor disponemos de fentanilo i.v, y no debemos olvidar la administración de atropina i.v en éste grupo de pacientes por su alta incidencia de bradicardia ante las más mínima manipulación. ⁽¹⁷⁾

Otra situación en la que varía el manejo anestésico del paciente pediátrico con respecto al adulto es en el manejo de la ansiedad. Según la edad del niño, los temores a los que se enfrenta también son diferentes: miedo a la separación de los padres en lactantes y preescolares, miedo al dolor en escolares y preadolescentes, miedo a que se viole su intimidad en adolescentes. El acompañamiento paternal desde la llegada al hospital hasta la inconsciencia es un método ampliamente aceptado en centros sanitarios donde se realizan procedimientos a menores de edad. Hay numerosos artículos en revistas de anestesia pediátrica donde queda claro el efecto beneficioso de cualquier método de distracción hasta la hipnosis: tabletas con canciones y videojuegos, monitores de video con dibujos animados, presencia de payasos ^(18,19,20). Este tipo de modificaciones en el manejo anestésico junto a la mención en los artículos indicados de la aparición de un posible efecto neurotóxico en el cerebro de animales en desarrollo sometidos a anestesia general, han hecho que en la última década los anesthesiólogos pediátricos estén preocupados en elaborar planes anestésicos menos tóxicos. ^(21,22,23) Como ejemplo del tipo de estudios experimentales a los que hago referencia expongo dos, llevados a cabo por personal del departamento de anestesiología de la Universidad de Virginia utilizando como modelo animal a la rata.

"Estudio en ratas de 7 días de vida expuestas a un cocktail anestésico de midazolam, óxido nitroso e isoflurane durante 6 horas. En los cortes histológicos de cerebro se detectó menos actividad en proteínas que participan en las sinapsis neuronales. Concluyen estos

autores que la exposición a este cocktail anestésico produce daños permanentes en regiones muy vulnerables del cerebro como son el córtex y el tálamo".⁽²⁴⁾

"La exposición del cerebro en desarrollo durante el periodo de sinaptogénesis a fármacos que bloquean los receptores NMDA del glutamato o que potencian el sistema GABAérgico puede disparar una neurodegeneración apoptótica diseminada, con predominio en el hipocampo, y con secuelas relacionadas con desordenes en la memoria y el aprendizaje".⁽²⁵⁾

II. DAÑO NEURONAL / CEREBRAL

1. DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El **desarrollo** del SNC, entendido como la organización progresiva de estructuras morfológicas, en la especie humana es un proceso que comienza en la vida intraútero y termina varios años después del nacimiento. El recién nacido (RN) presenta un neuroeje rudimentario, cuyos centros encefálicos continúan formándose y organizándose. Aunque sí dispone de la mayoría de los reflejos primarios, aún le faltan funciones más elevadas del SNC por adquirir. Hasta pasado el primer año después del nacimiento no se completa el proceso de mielinización. Es durante el período postnatal cuando acontece el aumento de las circunvoluciones y el tamaño absoluto del cerebro humano. Este segundo concepto es el que denominamos **maduración**.

Resumiendo este desarrollo en etapas podemos hablar de cuatro de ellas. La primera la denominamos etapa de **proliferación**. En ella se produce la organogénesis y la multiplicación glial y se va completando la mielinización y el crecimiento de las dendritas y axones. La segunda etapa es en la que se lleva a cabo la **diferenciación**, y abarca hasta el feto, ya casi a término. Durante esta segunda etapa se produce un pico ontogénico en el que continúan los cambios estructurales manteniendo la organización existente. Termina esta etapa con la tercera, en la que ya tenemos un SNC estable, y nos conduce hacia la cuarta etapa que correspondería al período de senectud. Del nacimiento a la madurez ocurre un continuo desarrollo, en paralelo al crecimiento de las estructuras nerviosas y gracias a la plasticidad cerebral.

Este **proceso es organizado y ordenado**, apareciendo en el RN en sentido cefalocaudal. La adquisición normal de habilidades refleja el desarrollo normal del SN. ⁽²⁶⁾

Aproximadamente en la tercera semana de vida embrionaria y a partir de la lámina de ectodermo del embrión, comienza a desarrollarse el sistema nervioso. Se observa, en primer lugar, un engrosamiento que corresponde a la placa motora, que experimentará un crecimiento celular muy rápido, formándose un surco y unas crestas a sus lados. 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. Al finalizar esta semana, el surco neural sufre una invaginación que lo convierte en un tubo, el tubo neural. Éste se terminará cerrando por su extremo cefálico hacia el día 23 y por su extremo caudal en torno al día 27.

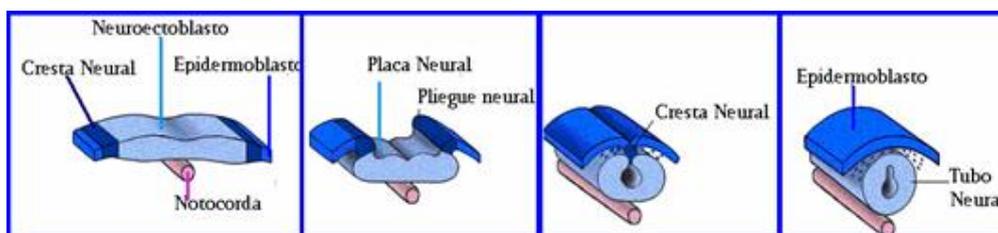


Figura 10. Formación del tubo neural

Una vez cerrado el tubo neural por ambos extremos, el polo cefálico comienza a dilatarse formando primeramente tres vesículas: el prosencéfalo, el mesencéfalo y el romboencéfalo. A la quinta semana de vida embrionaria, estas primeras vesículas se diferencian en vesículas secundarias en su camino hacia el desarrollo de la estructura del SNC

tal y como la conocemos; así obtenemos el telencéfalo y el diencéfalo, el mesencéfalo que se sigue denominando como su vesícula primaria, y por último el metencéfalo y el mielencéfalo.

(27)

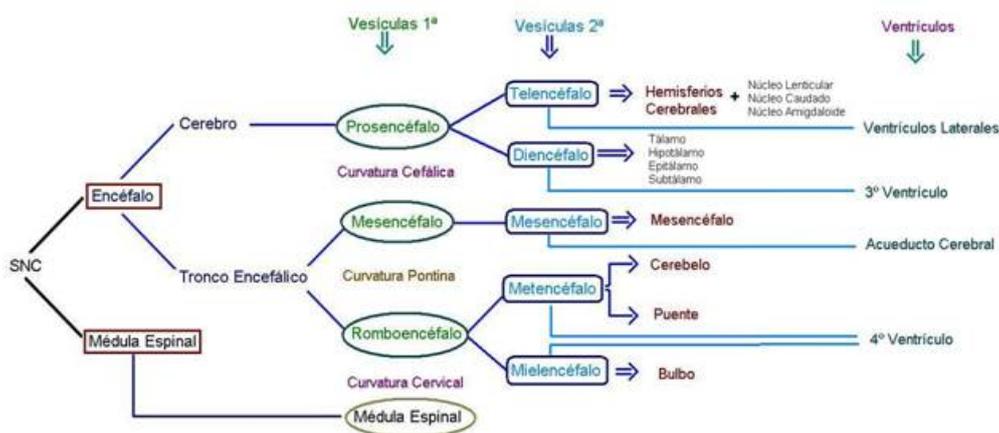


Figura 11. Diagrama explicativo de la estructura final del SNC

Desde las primeras 24 horas de nacido, se inicia un periodo de máxima sensibilidad que se extiende hasta los 4 años y en el que el contacto directo materno-filial favorece el desarrollo del concepto de confianza original primaria: lazos sociales, capacidades de armonía, maduración de su inteligencia. También destaca la adquisición en estos años de la capacidad de diferenciar personas concretas, saludar y buscar personas. Otro ejemplo de la progresión del desarrollo del SN tras el nacimiento es la progresiva adquisición de capacidades para jugar con personas o con objetos inanimados, como los peluches, a partir del tercer año. (26)

A pesar de la existencia de un patrón normal de evolución, no existe una única secuencia de adquisición de funciones. El proceso no es estereotipado y la variabilidad en el

desarrollo normal de RN es una de sus grandes características. El proceso de desarrollo psicomotor de los niños se extiende durante toda la infancia, fundamentalmente hasta los dos primeros años de vida. Todo ocurre bajo la acción de influencias tanto genéticas como ambientales. La no culminación de este camino puede llevar a una disfunción cerebral que a nivel clínico se corresponde con retraso mental, parálisis cerebral, epilepsia o una disfunción cerebral mínima. En condiciones normales, todo ocurre de manera ordenada, y las células del SN proliferan de manera específica. Al llegar a la edad adulta dispondremos de un árbol neuronal de unos 10.000 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 ó espontánea, denominado apoptosis, que implica a las neuronas que terminan su desarrollo sin establecer contacto periférico funcional suficiente. Las neuronas son las células encargadas de recibir y conducir el estímulo nervioso. Su tamaño y su forma son muy variables pero en todas podemos identificar un cuerpo neuronal, el soma, y una red de prolongaciones (las dendritas). De estas últimas, las que reciben información se denominan dendritas y la que transmite la información es el axón. Las neuronas se sostienen en una red formada por las células de la glía. Éstas también derivan fundamentalmente del ectodermo y son hasta 10 veces más abundantes que las propias neuronas. Decir que sirven de sostén al árbol neuronal es muy simplista. Realmente existe una dependencia absoluta entre ambas poblaciones celulares. La glía, en cualquiera de sus tres formas básicas, astrocitos, oligodendrocitos o microglía, participa activamente en los procesos de comunicación interneuronal, y asegura el aporte nutricional a las neuronas, así como la posibilidad de que migren de un lugar a otro. Un daño en la estructura glial conllevaría un daño neuronal asociado. ⁽²⁸⁾

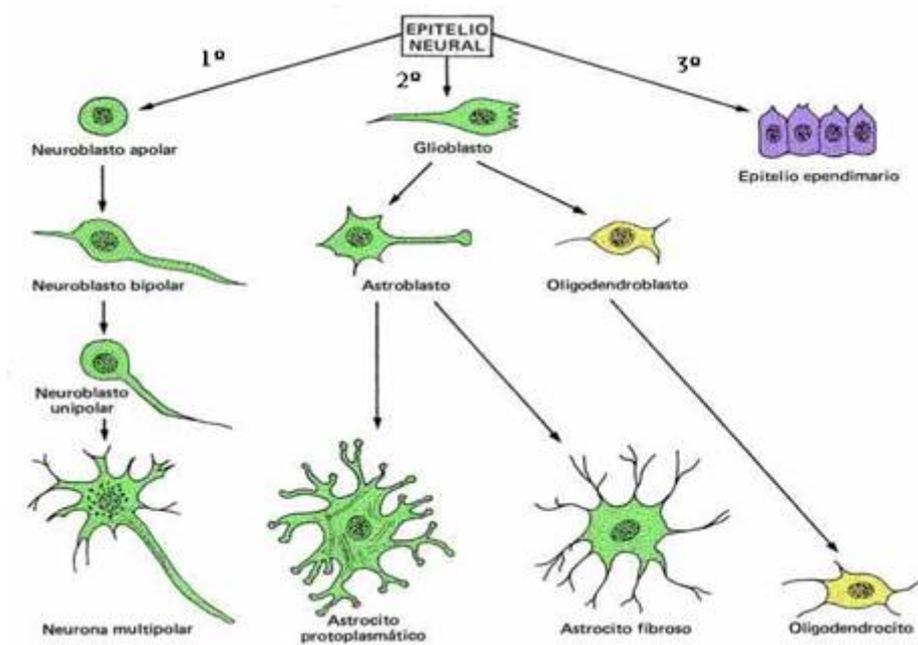


Figura 12. Dibujo esquemático del desarrollo de células del SNC

Funciones de la glía:

- Mantenimiento de la composición iónica
- Regulación de los niveles de neurotransmisores
- Suministro de citoquinas
- Suministro de factores de crecimiento

En el año 1859 el médico alemán Rudolf Virchow comenzó a definir una idea: debería existir algún tipo de soporte funcional para las células del SN. Efectivamente, así era. En el año 1891 un español, Don Santiago Ramón y Cajal, descubrió que las neuronas y las células de la glía eran diferentes poblaciones celulares dentro de un mismo SN. En el año 1906, al médico aragonés, se le concedió el premio Nobel de Medicina por sus descubrimientos acerca del SNC. Así, no solo identificó y describió distintos tipos de neuronas, sino que aportó una idea acerca del sostén y de la interconectividad del SN, descubriendo la microglía y los oligodendrocitos.⁽²⁹⁾

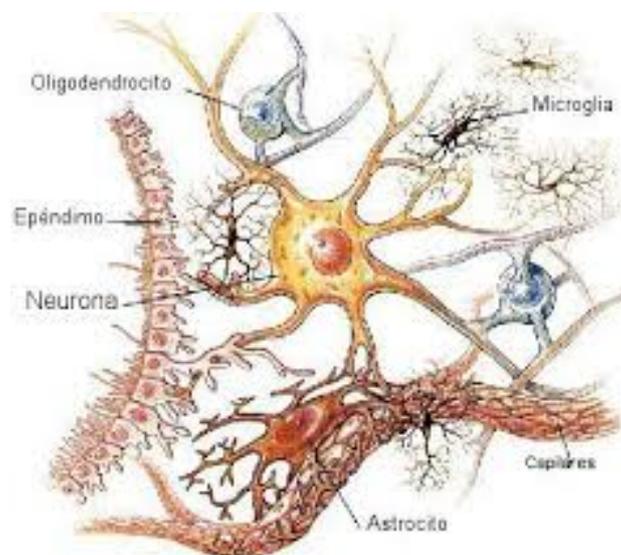


Figura 13. Dependencia de la glía y las neuronas

2. APOPTOSIS NEURONAL

El término *apoptosis* es fácil de encontrar y no ofrece lugar a ninguna duda: es un fenómeno de muerte celular programada que ocurre en los seres vivos. Su origen, como la mayoría de los términos médicos, proviene del griego, y quiere expresar una “caída”. En griego la palabra es tónica con acento y tilde en la primera *o* (*apoptosis*). El término griego *ptosis* también indica caída pero, en nuestro caso, al contar con el prefijo *apó*, esta caída sería lenta, gradual (...como la caída de las flores y hojas de una planta...). La necesidad de encontrar un término para definir este fenómeno fue sentida por un grupo de anatomopatólogos escoceses en 1972, Kerr, Wyllie y Currie, quienes contactaron con el profesor de filología griega de la Universidad de Aberdeen, Prof. Cormack. Este último propuso el término, rescatándolo de un uso hecho por el médico griego Dioscórides el siglo I d.C en su obra *De Materia Médica*, un tratado sobre animales, plantas y minerales.⁽³⁰⁾ Es, por lo tanto, la apoptosis un hecho “natural”: todas las células están programadas para morir. Debemos entender que la apoptosis es un fenómeno activo, como ya hemos mencionado, programado y que se desencadena (o inhibe) por una serie de estímulos, bien fisiológicos o patológicos. La célula que muere mediante apoptosis lo hace en tres fases: la primera, de inducción; la segunda, de ejecución; y la tercera, de degradación. En la fase de inducción, la célula detecta la señal de “suicidio”. Esta señal puede ser interna (presencia de radicales libres, activación del citocromo C, alteraciones en la secuencia del ADN) o externa. Estas señales externas, unas moléculas que denominó ligandos (factor de necrosis tumoral-TNF- , o el Fas-L del linfocito T killer), interaccionan con los dominios extracelulares de unas proteínas transmembrana (la TNFR 1 ó el FAS-CD95). Al producirse esta interacción se

activan dominios intracelulares de esas proteínas transmembranas. Son los denominados Death Domain (DD). La activación de éstos últimos es la señal de arranque de sistemas enzimáticos de ejecución. Entraríamos así en la segunda fase de la apoptosis. La proteína citocromo C, la familia de proteínas Bcl-2 y las Caspasa, una vez activadas, se encargan de promover la proteólisis de las estructuras celulares. En la tercera fase, la de degradación, lo primero que ocurre es la fragmentación del núcleo y de otros elementos del citoplasma, originando los denominados cuerpos apoptóticos; a continuación estos cuerpos son fagocitados por otras células y en tercer lugar estos restos son degradados por las enzimas de los lisosomas de estas células vecinas. ⁽³¹⁾En contraposición a la apoptosis, nos encontramos con la muerte celular por daño celular directo, hecho al que se refirió Virchow en 1858 como necrosis. En este segundo caso, la célula muere en respuesta a una noxa. Existe una alteración de la integridad de la célula que se manifiesta a nivel microscópico con imágenes de tumefacción y vacuolización, con formación de ampollas exofíticas que son fagocitadas por los macrófagos. ⁽³²⁾

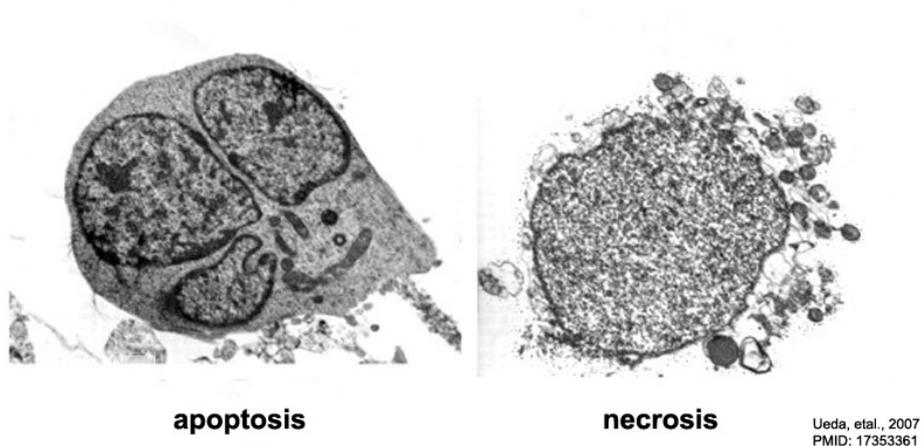


Figura 14. Diferencias entre apoptosis y necrosis

Una vez descritos estos conceptos básicos acerca de la apoptosis, nos gustaría volver al tema de que se trata de un proceso natural. ¿Cuál es su función? A nadie se le escapa el hecho de que el ser humano es un ser vivo en continuo desarrollo. Nuestro camino evolutivo acaba en el momento de la muerte. Durante todo ese trayecto, pero más en las etapas iniciales, ocurre una proliferación celular que se diferencia en distintas funciones. Debe existir un mecanismo, y aquí es donde entra en juego la apoptosis, que regule esa proliferación, para que no sea exagerada. Funciona pues como un servofreno. Ayuda a mantener un equilibrio entre la proliferación y la muerte. Además de esta función de control de velocidad, la apoptosis nos defiende del desarrollo de poblaciones celulares con daños en su código genético y que nos podrían perjudicar si se expandieran. Como expresamos en párrafos anteriores, la apoptosis se desencadena por señales que alcanzan unos receptores. Es verdad que se este fenómeno se diferencia del de necrosis por la ausencia de una noxa que agrede a la célula de manera directa, pero también es cierto que determinadas sustancias pueden “confundir” a la célula y desencadenar una apoptosis sin que estuviera prevista.

A principios de ésta década, comenzaron a publicarse en revistas científicas trabajos cuyos resultados arrojaban la presencia de apoptosis de neuronas y de células de la glía (neuroapoptosis) en ratas expuestas a anestésicos habituales.^(33,34) Los estudios que demuestran daño cerebral secundario a neuroapoptosis son todos en animales que se anestesiaron para ese fin. Ciertamente estos trabajos siempre concluyen en el mismo sentido: efectivamente la exposición de animales a cualquier tipo de anestésico en una fase temprana del neurodesarrollo aumenta un fenómeno de neuroapoptosis que hasta un cierto grado se considera fisiológico.

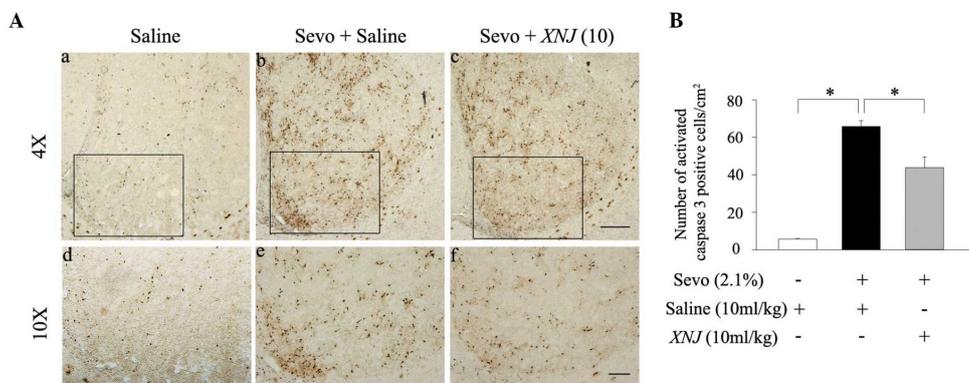


Figura 15. Aumento de actividad caspasa 3 tras exposición al sevoflurano

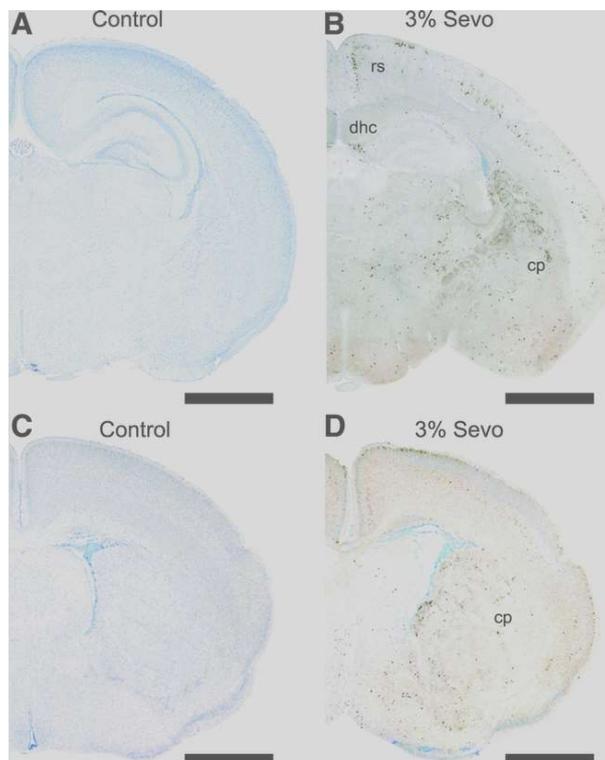


Figura 16. Aumento de la actividad caspasa 3 tras exposición a sevoflurano

En el año 2005 aparecían los resultados de estudios que demostraban una disminución del peso del cerebro y un aumento de la actividad de la caspasa 3 en zonas del hipocampo de fetos de cerdos de Guinea cuyas madres habían sido expuestas a etanol durante el embarazo. ⁽³⁵⁾ En ese mismo año otros autores y ahora en ratas se atrevieron a afirmar la presencia de una neuroapoptosis diseminada cuando la exposición a los anestésicos coincide con los picos sinaptogénicos. Si la exposición era igual a 2 horas, los sistemas de neuroapoptosis que se ponía en marcha implicaban a la caspasa 9 y al citocromo c; si la exposición anestésica era mayor de 6 horas, eran las proteínas FAS y la caspasa 8 las responsables. Además relacionaban este hecho con los defectos tanto de memoria como de aprendizaje evidenciados en etapas ulteriores. ⁽³⁶⁾ En el año 2008 se publica un interesante estudio realizado en ratas que fueron sometidas a una anestesia general durante 6 horas con isoflurane 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. ⁽³⁷⁾ Acercándonos a fechas más recientes siguen apareciendo más trabajos realizados en animales. ⁽³⁸⁾ Así, en el 2011 se publica un trabajo que comparaba los patrones de neuroapoptosis y los déficits de memoria de ratones anestesiados con desflurano al 8%, sevoflurano al 3% o isoflurane al 2%. ⁽³⁹⁾ Tras 3 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 estudio se desprende como la exposición neonatal a determinadas sustancias neurotóxicas puede conllevar déficits de memoria en la etapa adulta. ^(40,41)

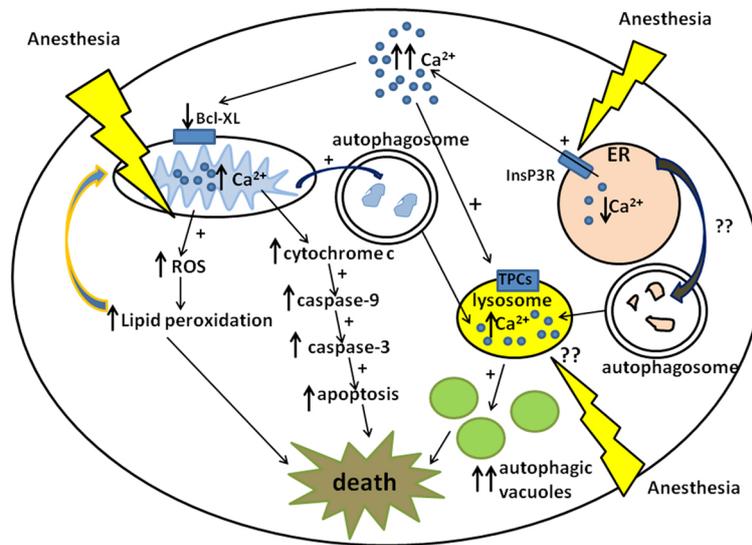


Figura 17. Representación gráfica de la anestesia como desencadenante de muerte neuronal

En el año 2007 la FDA, a través de un comunicado, y en relación a la gran cantidad de literatura publicada en modelos animales desde hacía años, lanzó el reto a la comunidad de anesthesiólogos para la realización de trabajos que pudieran arrojar resultados en cuanto a riesgo y seguridad de las droga anestésicas empleadas.⁽⁴²⁾ Y es que, el poder recoger conclusiones y redactar recomendaciones para ser utilizadas en los actos anestésicos en los seres humanos basándonos 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.^(43, 44, 45)

A partir del año 2013 ya empezamos a disponer en la literatura de resultados de trabajos que pretenden demostrar el efecto neuroprotector de determinadas sustancias en animales expuestos a anestésicos. Se da por sentado ya el efecto neuroapoptótico de estos fármacos y ahora en lo que se trabaja es en desarrollar estrategias de neuroprotección. ^(46, 47,48)

III. MAGNITUD BIOQUÍMICA DE DAÑO CEREBRAL

1. PROTEÍNA S-100B

En el año 1965 el bioquímico Blake W. Moore, del departamento de Psiquiatría de la Escuela de Medicina de la Universidad de Washington identificó una familia de proteínas que, al ser solubles al 100% en sulfato de amonio, denominó proteínas S 100. Consiguió identificar hasta 20 miembros en ésta familia de proteínas. El señor Moore creía que debía existir algún tipo de antígeno neural específico común compartido por diferentes especies de animales debido a que todas desarrollamos funciones muy especializadas gracias al tejido del SN. Las dos primeras que identificó fueron la proteína S 100 α , que actualmente se denomina proteína S 100 A y la proteína S 100 β , la conocida hoy en día como, la S100 B. Las investigaciones iniciales se realizaron en ovejas. ⁽⁴⁹⁾ Las diferentes variantes que componen esta familia lo hacen al combinar sus cadenas polipeptídicas. Tenemos algunas que son monómeros y otras que son dímeros. Hasta el 40% de la secuencia de aminoácidos de las cadenas son repetidos en todos los miembros de la familia. En el caso que nos ocupa, la proteína S 100 B, es un dímero, por eso en ocasiones nos referimos a ella como proteína S 100 BB.

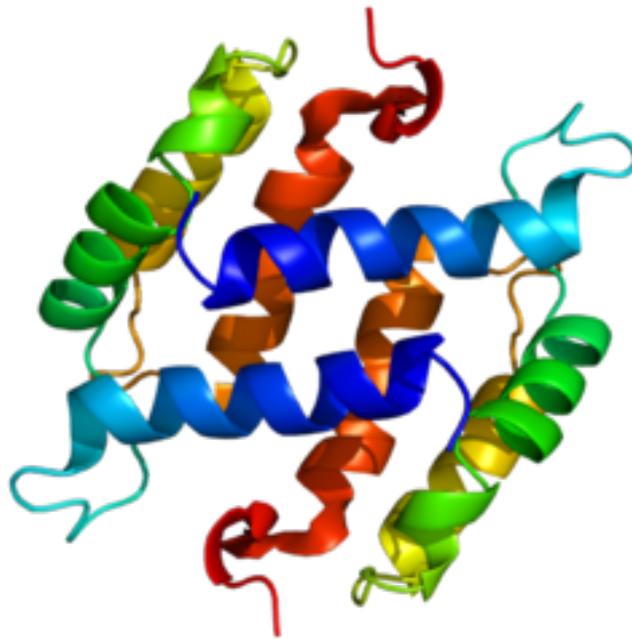


Figura 18. Estructura terciaria de la proteína S 100 B

Esta proteína se encuentra fundamental pero no exclusivamente en astrocitos, oligodendrocitos, ependimomiocitos y otras células del sistema nervioso. Su ubicación varía desde dentro del citoplasma hasta integrada como proteína de membrana. Dentro de la familia de la proteína S tenemos a la proteína A1 que se ha aislado en células renales y en el miocardio. Existe también producción de proteína S 100 BB en otras poblaciones celulares: adipocitos, condrocitos, y melanocitos. Sin embargo, la proteína S 100 B, por su origen glial, ha sido considerada como un marcador indirecto de actividad neuronal.

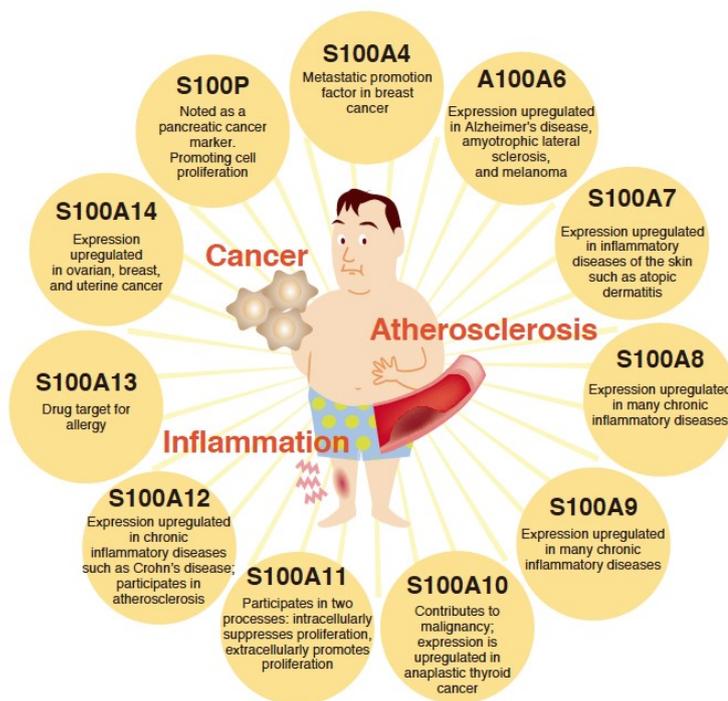


Figura 19. Diferentes implicaciones de la familia de las proteínas S

Se trata de una proteína de pequeño peso molecular (9-13 kilodalton), presente solo en vertebrados y que está implicada en funciones neurotróficas y gliotróficas. Es una proteína ácida y termolábil. Se elimina por el riñón y tiene una vida media corta, de entre 30 minutos y 2 horas. Como veremos más adelante, esta proteína presenta concentraciones elevadas en algunas situaciones clínicas donde existe daño neuronal, por lo que se intenta establecer su valor como marcador de daño neuronal, al igual que existen marcadores de daño miocárdico o hepático. ⁽⁵⁰⁾

Esta proteína está codificada en el cromosoma 21 (loci21q22). En su estructura secundaria se trata de una proteína dimerica, en la que sus dos cadenas polipeptídicas tienen una estructura secundaria con dos hélices alpha y una lámina beta que en su estructura

terciaria se pliegan formando un dominio tipo mano EF. La denominación de hélice E y hélice F hace referencia a su similitud a la estructura conocida mediante rayos X de la paraalbumina. Exhibe dos sitios de unión al calcio: la EF del extremo N terminal y la otra EF, con mucha más afinidad por el calcio, en el extremo C terminal de la cadena de aminoácidos.

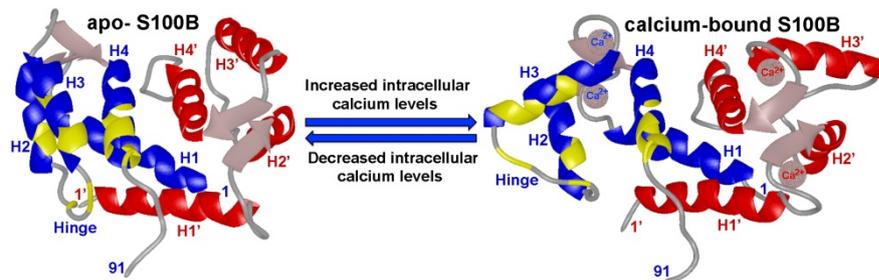


Figura 20 .La proteína S 100 B como ligadora de Calcio

A nivel estructural, al ser una proteína fijadora de calcio, cuando sus sitios de unión están ocupados por este elemento, sufre un cambio conformacional, girando 90 ° sus hélices y adquiriendo forma de herradura, mediante la cual se une a los receptores de sus dianas originando cambios en la función normal de los mismos. Se la denomina por ello una proteína de señalización.

La proteína S100 B la podemos encontrar en dos sustratos. Uno de ellos, en el interior de las células gliales, fundamentalmente astrocitos. El segundo de ellos, en el espacio extracelular a donde llega por fenómenos de difusión pasiva desde sus células productoras.

La proteína S 100 B tiene un papel fundamental en el buen desarrollo del SN. Así, promueve la comunicación entre células, la proliferación y la diferenciación, la dinámica del

citoesqueleto de las células y sus cambios de morfología. En resumen se trata de un factor trófico, en condiciones normales. La cifra de concentración plasmática en esta situación es del orden de ng/L.

La concentración en sangre de esta proteína permanece estable en adultos, pero en niños sufre un descenso desde la semana 20. En el nacimiento, y más aún en los prematuros, es donde encontramos las mayores concentraciones, siendo la media en menores de 1 año de 0,350 $\mu\text{g/L}$ y en mayores de 1 año 0,130 $\mu\text{g/L}$. A los 7 años se encuentra un pico de concentración (0,8 $\mu\text{g/L}$) y un segundo a los 14 años (1.1 $\mu\text{g/L}$). Algunos trabajos definen un valor medio en población pediátrica de 0.158 $\mu\text{g/L}$. Cuando se ha estudiado su asociación con el sexo, no se han encontrado diferencias. ⁽⁵¹⁾

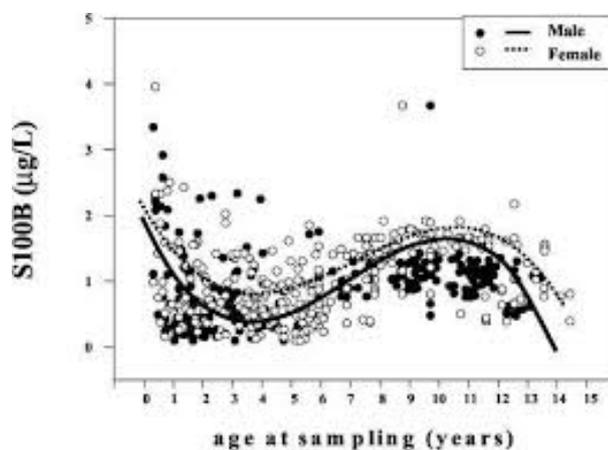


Figura 21. Concentraciones plasmáticas de la proteína S 100 B

La proteína S 100 BB interacciona con un gran número de proteínas diana. Existen receptores en las sinapsis, tanto en las membranas como en las propias vesículas. También se han identificado zonas de unión en membranas no solo de organelas del citoplasma sino incluso en la del núcleo neuronal. ⁽⁵²⁾

Cuando una noxa activa al sistema defensivo (macrófagos) de la microglía, se produce una sobreexpresión de ésta proteína que pasa a alcanzar cifras del orden de $\mu\text{g/L}$ y de localización extracelular. El aumento de concentración puede ser secundario a la lesión directa a los astrocitos, o bien a la secreción por parte de estos como respuesta a la agresión ^(53, 54) Nuestra proteína pasa de ser un agente neurotrófico a comportarse como una sustancia proinflamatoria que conduce a la disfunción neuronal.

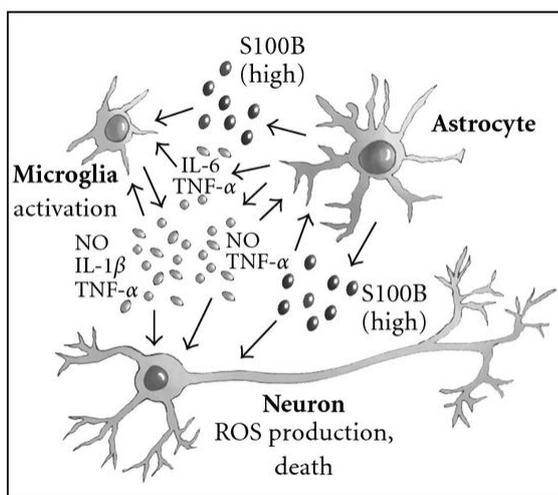


Figura 22. Interdependencia entre el sistema de la glía y las neuronas

En relación a lo que estamos comentando, en el año 2014 se concluyó un estudio en el que se establecieron cuatro niveles de concentración de proteína S100BB en sangre y el pronóstico neurológico tras TCE: así cuando la cifra era $< 0.10 \mu\text{g/L}$ concluían que no debería existir lesión; con niveles de $0.20 \mu\text{g/L}$ la lesión intracraneal sería leve, grave cuando las cifras alcanzaran los $0.50 \mu\text{g/L}$ y muy mal pronóstico con cifras $> 2 \mu\text{g/L}$. En el análisis estadístico alcanzó un VPP del 99%.⁽⁵⁵⁾

A nivel bioquímico, las altas concentraciones extracelulares de esta proteína la convierten en una DAMP. Tras una agresión y debido al aumento de los niveles de calcio libre se favorece la unión al receptor RAGE de la superficie de las membranas celulares de los astrocitos, microglía y neuronas.

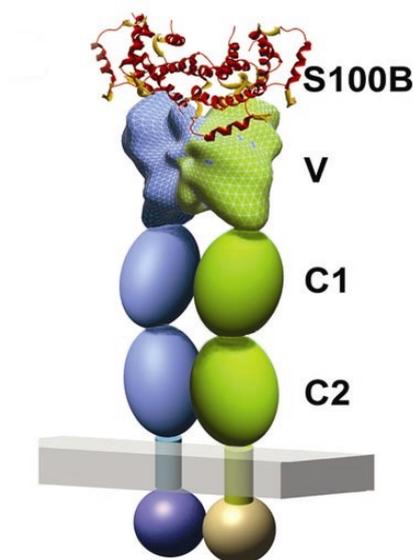


Figura 23. Sitio de unión de la S100B al RAGE

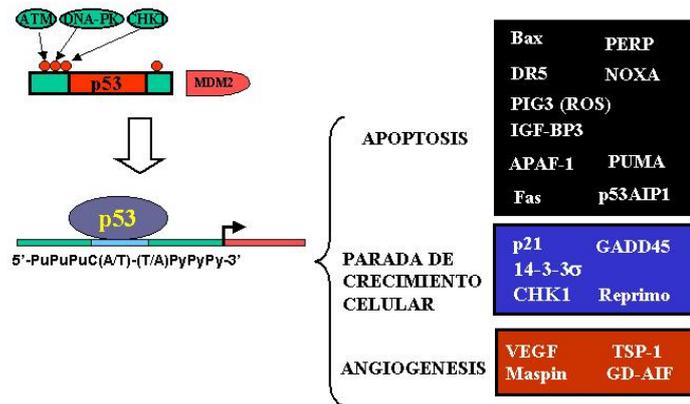
La activación de este receptor dará paso al inicio de una vía intracelular de apoptosis, en la cual el factor nuclear κ B, entre otros, induce la actividad de la enzima óxido nítrico sintetasa, aumentando la cantidad de óxido nítrico en el líquido intracelular que conllevará a un daño neuronal.

Además de la activación de los RAGE, la estimulación de los astrocitos perpetúa un ciclo de aumento de interleucina 6, interleucina 1 β y factor de necrosis tumoral α que magnifican el daño celular. ⁽⁵⁶⁾

Figura 24. Efectos de la unión S100B al RAGE en neuronas y células gliales

Existe una segunda vía que conllevaría a la neuroapoptosis tras activarse los RAGE por parte de la proteína S 100 B. Es la denominada vía extracelular. En ella, tras esta unión se

activaría la expresión de la p53, una proteína de 53 kda de pm implicada en la regulación de genes como el Bax o los PIGs.



Genes regulados por p53

13

Figura 25. Implicación de la p 53

El gen Bax es miembro de la familia de los oncogenes Bcl-2 y cuando se expresan conducen a una liberación de citocromo C al citosol, desde la pared de las mitocondrias. Este aumento de citocromo promueve la acción de la caspasa 9, con gran actividad proteolítica. Los PIGs promueven el estrés oxidativo de la célula dañada, al aumentar la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), tanto oxígeno como peróxidos y otros radicales libres.

(57,58)

Puntos claves acerca de la Proteína S 100 B:

- A concentraciones ng/L se une a los RAGE y ejerce acciones neurotróficas favoreciendo la extensión neurítica y la supervivencia neuronal
- A concentraciones $\mu\text{g/L}$ se une a los RAGE y amplifica la respuesta inflamatoria cerebral dañando neuronas y células gliales.

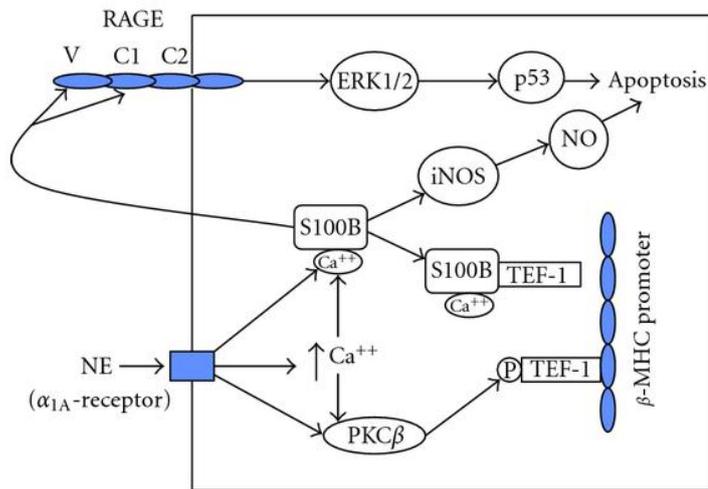


Figura 26. Dibujo explicativo relación S100B y apoptosis

2. PROTEÍNA S 100 B: CONTEXTOS CLÍNICOS

2.1. Parada cardiorespiratoria

En el año 1998, Rossen et al publicaron en la revista *Stroke* resultados de una serie de 41 pacientes que sufrieron una parada cardiorespiratoria (PCR) y sobrevivieron inicialmente tras medidas de resucitación cardiopulmonar. ⁽⁵⁹⁾ Ellos midieron en sangre los niveles de proteína S100B, obteniendo un contundente resultado: el 100 % de los fallecidos a los 2 días de la PCR tenían valores de S100B por encima de 0,2 µg/L. El grupo de Bottiger et al, en el 2001, publicó en *Circulation* los resultados de su trabajo sobre 66 pacientes que sobrevivieron a una PCR de origen no traumático. ⁽⁶⁰⁾ Explican como la elevación de la S100B a las 2 horas de la PCR (3,70 µg/L) se correlacionaba con anormalidades en el EEG. Además fueron capaces de establecer un valor predictivo del 87%, para los fallecidos en los primeros 14 días tras la PCR y que presentaban cifras elevadas de S100B a las 24 horas tras sufrirla.

2.2 Traumatismo craneoencefálico

El grupo español de F. Richard Espiga llevó a cabo un estudio en el año 2011 en pacientes (mayores de 14 años) que habían sufrido un traumatismo craneoencefálico leve (TCE). Les extrajo sangre antes de las 3 horas postTCE y determinó la concentración de S100B. Además les realizó una tomografía axial computerizada (TAC) de cráneo. El 100 % de los TAC fueron normales cuando la concentración de la S100B era menor de 0.137 µg/L; los TAC patológicos se correlacionaron siempre con cifras superiores a este punto de corte.

⁽⁶¹⁾ Un año antes, en el 2010, un grupo griego del hospital de Larissa (Grecia), formado por neurocirujanos, radiólogos e intensivistas, realizaron una revisión sistemática utilizando MEDLINE, intentando establecer el papel de la proteína S100 B como biomarcador del TCE moderado. Concluyeron que el resultado normal de la proteína en sangre serviría para disminuir el número de niños que se someterían a un TAC de cráneo. Los niveles elevados, sin embargo, podrían haber estado influenciados por la presencia de otras grandes heridas traumáticas, o por el retraso en la obtención o procesado de la muestra. ⁽⁶²⁾ En esta misma línea de trabajo, la doctora Melissa M. Tavrez, médico del Servicio de Urgencias del Children's National Medical Center de Washington, se preocupó de revisar la literatura acerca de la utilidad de la proteína S 100 B para disminuir el número de TAC de cráneo realizados a niños con TCE leve. Aunque en su revisión citó varios artículos donde se reconoce la elevación de la cifra, concluye que se requieren más investigaciones en este sentido. ⁽⁶³⁾

2.3. Accidente cerebrovascular

Un grupo de pacientes en los que se ha estudiado la utilidad de esta proteína como marcador de extensión de daño e incluso como predictor de pronóstico, es en los pacientes que sufrieron algún tipo de evento vascular cerebral, isquémico o hemorrágico. Ya en el año 2008 podíamos leer en el *Critical Care* un interesante estudio en el que se enrolaron 109 pacientes que ingresaron en una unidad de cuidados intensivos a las 48 horas de sufrir una hemorragia subaracnoidea. ⁽⁶⁴⁾ Durante los primeros 15 días se les extrajeron muestras de sangre para determinar la cantidad de S100B. Tras un análisis multivariante, esta cifra fue la única que predijo el pobre resultado al alta (Glasgow menor de 3) del 30 % de los pacientes,

estableciéndose un punto de corte de 0,23 µg/L. En el año 2010 la revista *Cardiovascular Psychiatry and Neurology* nos ofrece un artículo, también de revisión, donde un grupo de científicos japoneses y norteamericanos explican de manera muy precisa el mecanismo de acción de la proteína S100B y sus implicaciones en los procesos de proliferación y/o regeneración neuronal, tanto positivas (cuando están presentes a concentraciones nanomoles en el espacio intracelular) como negativas (cuando alcanzan concentraciones micromolares en el espacio extracelular).⁽⁶⁵⁾ Concluyen que la expresión de cantidades elevadas de S100B en la superficie de los astrocitos después de una lesión isquémica cerebral retrasa la regeneración de glía en el área peri-infarto y promueve el daño cerebral.

También en *Crit Care* del 2012 podemos leer los resultados de un trabajo en el que administraban a 142 pacientes que habían sufrido una hemorragia subaracnoidea una dosis diaria de 40 mg de atorvastatina. Se supone que esta medicación disminuye la posibilidad de sufrir un vasoespasma cerebral tras una hemorragia de este tipo. Encontraron niveles de S100B en sangre más bajos en el grupo tratado con atorvastatina que en un grupo control.⁽⁶⁶⁾

Otros trabajos más recientes, de los años 2013 y 2014, hacen revisiones sistemáticas en la literatura y concluyen del mismo modo: aunque la utilidad de la S100B en cuanto al pronóstico parece validada, hacen falta estudios prospectivos más largos y mejor diseñados para poder mejorar la efectividad de este nuevo biomarcador.^(67,68)

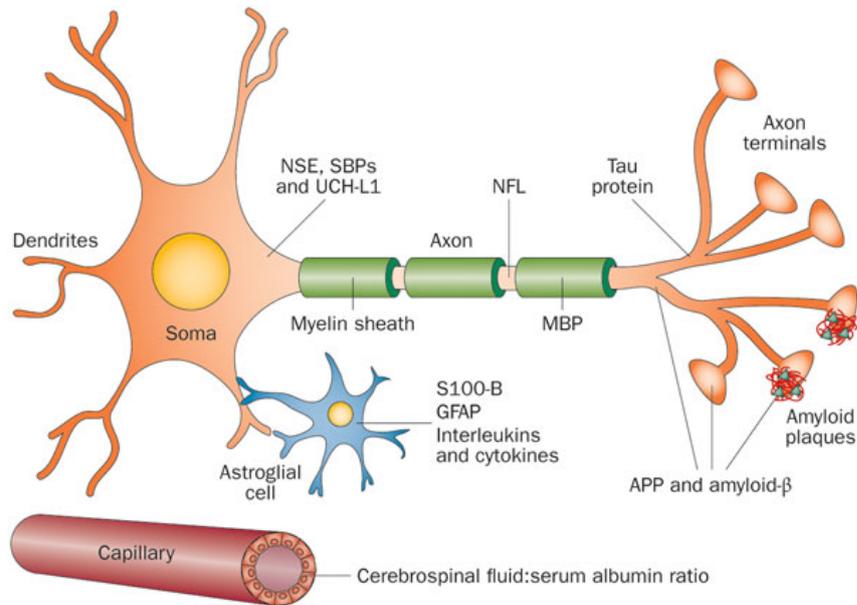


Figura 27. Diferentes biomarcadores de daño cerebral

2.4. Epilepsia

Con respecto a la epilepsia, como enfermedad cuyo origen y manifestaciones clínicas tienen base en el sistema nervioso central, hemos encontrado abundante literatura donde se pone de manifiesto la elevación de los niveles plasmáticos de la proteína S100B. Así el Departamento de Neurología Pediátrica junto con el departamento de bioquímica de la Universidad de Harran, en Turquía, han publicado varios artículos en relación a esta enfermedad. En el 2013 aparece en la revista *Seizure* un artículo en el que se determina la concentración de proteína S100B a los 30 minutos después de sufrir una crisis convulsiva parcial, en niños y niñas diagnosticados de epilepsia del lóbulo temporal. La concentración media en sangre fue de 0,12 $\mu\text{g/L}$, mientras que en el grupo control fue tan solo de 0,07 $\mu\text{g/L}$.

⁽⁶⁹⁾ En el 2014, publicaron los resultados de otro trabajo en la revista *Neuroscience* en el que

comparan los niveles basales de 25 niños sanos con los de 32 niños diagnosticados de epilepsia resistente a medicación habitual. ⁽⁷⁰⁾ Recientemente leemos en la revista *Epilepsy & Behavior* un interesante artículo de los mismos autores acerca de niños con espasmos del sollozo. Este tipo de paroxismo, en ocasiones se acompaña de pérdida de consciencia y de movimientos tónico- clónicos. Se estudió la concentración de S100B en un grupo de 45 niños y niñas y, en un grupo control de otros 32. Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos (56,38 picogramos/mL vs 48,53 picogramos/mL). En sus conclusiones sugieren la posibilidad de que la disfunción neuronal metabólica y el daño neuronal fueran secundarios a la hipoxia. ⁽⁷¹⁾

2.5. Encefalopatía hipóxico isquémica

En el año 2006 el Departamento de Neurología y el Departamento de Bioquímica de la Universidad Federal de Río Grande en Porto Alegre, Brasil, publican en *Ar. Neuropsiquiar* los resultados de un estudio longitudinal prospectivo de 21 niños nacidos en un año diagnosticados de encefalopatía hipóxico isquémica (EHI). Midieron los niveles de S 100 B el primero y el cuarto día tras nacer y los relacionaron con la gravedad del cuadro (leve, moderado y severo). Las cifras fueron claramente mayores en las muestras de sangre de niños con EHI grave y en el primer día (4,6 µg/L). Cuando analizaron el resto de variables observaron que existía una correlación directa entra esta cifra y la elevación de lactato en sangre, una cifra que indica una situación de acidosis en el recién nacido. ⁽⁷²⁾

En el año 2012, podemos leer un editorial del *Boletín de la Sociedad de Pediatría de Andalucía Oriental*, firmado por el Dr. J .Uberos, acerca de la hipotermia moderada en la

encefalopatía hipóxico-isquémica en el recién nacido. En este documento expone acertadamente como la proteína S100B es un marcador bioquímico que se eleva en los fluidos corporales en la EHI. Recoge varias situaciones clínicas que podrían elevar marcadamente sus cifras como son el retraso del crecimiento intrauterino, la hipoxia crónica, las infecciones perinatales, el parto traumático o el parto prematuro, el tratamiento materno con glucocorticoides y anestésicos. ⁽⁷³⁾

Con respecto a la hipoxia crónica como factor causante de una elevación de la S100B, otra vez el grupo de investigadores turcos, esta vez acompañados de los médicos del Departamento de Otorrinolaringología, estudiaron los niveles de S100B de 40 niños que sufrían de hipertrofia adenoidea, antes y después de su intervención quirúrgica. La primera muestra de sangre la obtuvieron en la consulta de preanestesia, una semana antes de la intervención, y la siguiente muestra, a las cuatro semanas después de la operación. Comprobaron como los niveles pre eran mayores que los post (0,43 µg/L vs 0,23 µg/L). Además demostraron que los niveles pre eran más elevados en niños con hipertrofia adenoidea que en otros sanos tomados como control (0,42 µg/L vs 0,27 µg/L). En la discusión insisten en la posibilidad de hipoxia en niños con obstrucción crónica de la vía aérea superior. ⁽⁷⁴⁾

Hace unos meses, un grupo italiano presentó un artículo de revisión acerca del estado actual del uso precoz de biomarcadores de daño cerebral en recién nacidos. ⁽⁷⁵⁾ Con respecto al papel de la proteína S100B, vuelven a recordar la doble acción vinculada a su concentración plasmática: mejora la función neuronal y glial a bajas cantidades y, sin embargo, produce daño neuronal al aumentar la cantidad de óxido nítrico en las células

cuando su concentración extracelular es alta. También exponen otro hecho ya mencionado en el cual se observa un pico de concentración de S100B a las 6 horas del nacimiento y un descenso en las siguientes 24 horas. Con respecto a la EHI, describen una elevación en los niveles de S100B, tanto en recién nacidos a término como en pretérminos, incluso 48 ó 72 horas antes de que tengan alteraciones de laboratorio o manifestaciones clínicas. Los niveles de esta proteína también estaban elevados en madres y en niños que nacieron con crecimiento intrauterino retardado y en aquellos afectados por una hemorragia intraventricular (HIV).⁽⁷⁶⁾ Debido a que la eliminación de la proteína es renal se han detectado cifras elevadas en orina en niños que desarrollaron HIV incluso antes de tener afectación clínica. También se produjo una elevada eliminación renal de S100B en recién nacidos a término que sufrieron asfixia seguida de alteraciones en el desarrollo neurológico posterior.⁽⁷⁷⁾ También se ha empleado la S100B como herramienta para decidir qué recién nacidos se podrían beneficiar de la oxigenación con membrana extracorpórea ante un riesgo de desarrollar una HIV, aún cuando los signos clásicos (clínicos y de imagen) no se habían manifestado.^(78,79)

2.6. Tumores del SNC

A continuación describiré algunas otras implicaciones de la proteína S100 B en el diagnóstico de enfermedades del adulto, fundamentalmente del sistema nervioso. Se ha criticado la falta de especificidad de ésta proteína y su posible presencia en otros tejidos. Debemos aclarar en este punto que las células que también disponen de proteína S100B son los condrocitos, los adipocitos, células de la piel y en algunas células tumorales.

En el año 2003 se publicaron los resultados de un estudio en el que se evaluaba el comportamiento de la S100B en pacientes diagnosticados e intervenidos quirúrgicamente de glioblastoma multiforme, astrocitoma anaplásico o de metástasis cerebrales de tumores primarios de fuera del sistema nervioso. La concentración media antes de la cirugía no difería con la de un grupo control sano que se había tomado. Sin embargo, la concentración se elevó en un grupo de pacientes que sufrieron recidivas tumorales o que presentaron restos tumorales tras la cirugía. A estos pacientes se les midió nuevamente la concentración de nuestra proteína en sangre tras recibir tratamiento complementario con quimioterapia, radioterapia o radiocirugía y se constató una disminución de la cifra de S100B. Con ello concluye este grupo de la no utilidad para el diagnóstico de tumores del SNC pero si para valorar la respuesta al tratamiento o valorar la progresión de la enfermedad. ⁽⁸⁰⁾

2.7. Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica inflamatoria autoinmune en la que se produce una destrucción de la sustancia blanca (mielina) en el sistema nervioso central. Su etiología es desconocida. En su forma de evolución más habitual la enfermedad es recurrente (exacerbaciones) seguida de remisiones. En el año 2011 se publican los resultados de un estudio en el que se pretendía valorar la eficiencia de la proteína S100B como marcador del tratamiento inmunosupresivo. El estudio duró 24 meses. Las cifras iniciales de S100B fueron más elevadas en el grupo afectado por EM que el grupo control y las cifras descendieron significativamente más en el grupo de pacientes tratados con mitoxantona, un agente quimioterápico. ⁽⁸¹⁾

2.8. Esquizofrenia

En la revista *Psychiatry Research* del año 2009 encontramos un meta-análisis acerca de la utilidad de la S100B como marcador de daño neuronal en la esquizofrenia. Los resultados son concluyentes: la proteína S100 B está aumentada tanto al ingreso como al alta de los pacientes esquizofrénicos; sus cifras no varían con el tratamiento. Este hecho podría estar relacionado con un aumento de la secreción por parte de los astrocitos y por una disfunción de la barrera hematoencefálica en estos pacientes. ⁽⁸²⁾

2.9. Migraña

Otra entidad que afecta al sistema nervioso es la migraña. Aunque nunca se la ha considerado como una enfermedad maligna ni degenerativa, algunos investigadores se han cuestionado su "benignidad". Así en el año 2011 se publicó un artículo en la revista *Cell Mol Neurobiol* en las que se investigó la variación de cifras de S100B en 41 pacientes con migraña común sin aura. Se constató que las cifras aumentaban durante los ataques agudos y persistían elevados en los períodos entre crisis. Los autores proponen que quizás exista un lento proceso de daño glial o neuronal junto con una disrupción de la barrera hematoencefálica en estos pacientes. ⁽⁸³⁾

2.10. Enfermedad de Alzheimer

Por último mencionaré algunos aspectos relacionados con la enfermedad de Alzheimer (EA). En el año 2005 apareció en la literatura un interesante artículo acerca de un estudio con ratones a los que se les administraba dentro del sistema ventricular cerebral un material proteico similar al beta-amiloide que encontramos en los enfermos de EA. Además se manipuló genéticamente a dichos ratones para que un grupo sobreexpresara su proteína S100B mientras que el otro grupo no la expresaría en absoluto. En el grupo de la sobreexpresión proteica se produjo un aumento de la activación glial que generó un gran proceso neuroinflamatorio y severas secuelas neuropatológicas.⁽⁸⁴⁾

II. HIPÓTESIS

La anestesia general puede producir daño cerebral por la exposición a los fármacos anestésicos. Este daño cerebral puede ser evaluado mediante la concentración de la proteína S100B sérica, produciéndose un incremento significativo de la proteína S100B sérica tras la anestesia general que indique daño cerebral.

III. OBJETIVOS

1. OBJETIVO PRINCIPAL

- Evaluar el daño cerebral producido por la anestesia general en población pediátrica.

2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Analizar el comportamiento de la proteína S100B sérica antes y después de la anestesia general.
- Comparar la variación de la concentración de la proteína S100B sérica tras la anestesia general, mediante la diferencia entre la concentración de la proteína S100B sérica antes y después de la anestesia general.
- Explicar la correlación entre el incremento de la proteína S100B sérica tras la anestesia general y las dosis de fármacos anestésicos suministrados.
- Describir la correlación entre el incremento de la proteína S100B sérica tras la anestesia general y el tiempo de exposición a los fármacos anestésicos o duración de la intervención quirúrgica.

IV. MATERIAL Y METODOS

1. INFORME DE LA COMISION DE ETICA Y DE INVESTIGACIÓN

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, certifica que ha ponderado y evaluado la propuesta del Investigador Principal, D. Pablo Mesa Suárez, para realizar este proyecto de investigación, emitiendo un dictamen FAVORABLE con registro número CEI15_10.

En este dictamen se recoge que el proyecto cumple los requisitos de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio, se reconoce la capacidad del investigador y lo apropiado de los medios para llevar a cabo el estudio; además se entienden justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes y se manifiesta que es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.

También consta que no existen aspectos económicos que pudieran interferir con los postulados éticos.

2. AMBITO DEL ESTUDIO

Nuestro estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario de Puerto Real (HUPR), en la provincia de Cádiz., durante los años 2014 y 2015.

Cádiz es una de las 8 provincias que forman la Comunidad Autónoma de Andalucía, situada en la región al sur de España. Según datos del Instituto Nacional de Estadística, la población total de la provincia de Cádiz se situaba en 1.240.175 mil habitantes en el año 2014. La última tasa bruta de natalidad (nacidos vivos de cada mil habitantes) registrada en el mismo año era del 9,61%. La población pediátrica, entendida como aquellos que aún no tienen 15 años de edad (0-14 años) era en enero de 2014 de 207.944 mil habitantes.

Nuestro hospital es uno de los centros sanitarios especializados que ofrece el distrito sanitario Bahía de Cádiz-La Janda, junto con el Hospital Puerta del Mar. Ambos dependen del Sistema Andaluz de Salud. El HUPR ofrece asistencia especializada a varias zonas básicas de salud de nuestro distrito: Barbate, Chiclana de la Frontera, Conil, Medina Sidonia, Vejer de la Frontera, el Puerto de Santa María, y Puerto Real.



Figura 28. Mapa de la provincia de Cádiz

Es en el Hospital Universitario de Puerta del Mar, en el término municipal de Cádiz, donde se encuentra el servicio de Cirugía Pediátrica de la provincia de Cádiz. Sin embargo, esta actividad quirúrgica se complementa con la población pediátrica atendida en el HUPR. Según datos del 2013 y del 2014 en nuestro centro hospitalario se intervinieron una media de 400 pacientes pediátricos por año, correspondiendo fundamentalmente a pacientes procedentes del área de otorrinolaringología.

3. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA.

La población del estudio la forman los pacientes en edad pediátrica (menores de 15 años) pertenecientes al área de influencia de nuestro hospital propuestos por el Servicio de Otorrinolaringología del HUPR para la realización de la intervención quirúrgica adenoidectomía y amigdalectomía con carácter programado.

Tamaño muestral: El reclutamiento de pacientes se hizo de forma consecutiva durante el periodo comprendido entre el 1 de febrero hasta el 31 de Julio de 2015 (Seis meses), obteniéndose una muestra de 76 pacientes.

4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

4.1. Criterios de inclusión

- Pacientes pediátricos de ambos sexos
- Con edades comprendidas entre 0 y 14 años de edad
- Que presenten valores de riesgo anestésico de la escala ASA I y II.
- Programados para intervención quirúrgica de hipertrofia amigdalina y/o vegetaciones adenoideas por parte del servicio de ORL del hospital de Puerto Real.
- Pacientes pertenecientes a nuestra área sanitaria.

4.2. Criterios de exclusión

- Pacientes pediátricos con enfermedades neurológicas ya diagnosticadas, sometidas a tratamiento farmacológico.
- Pacientes con antecedentes familiares de enfermedades neurológicas,
- Pacientes con tumores de partes blandas y/o cartílagos, o que sufrieran recientemente (menos de 3 meses) algún traumatismo de alto impacto con afectación extensa del tejido musculoesquelética.
- Pacientes con discrasias sanguíneas
- Pacientes con alteraciones analíticas significativas de problemas de función renal o hepática
- Cirugía no programada
- Pacientes con antecedentes personales de prematuridad
- Pacientes cuyos padres hayan rechazado la participación en el estudio
- Pacientes incluidos programados para cirugía pero siendo responsable anestésico ese día algún FEA del bloque quirúrgico que rechazase en su momento formar parte del estudio.

5. MÉTODO CLÍNICO

5.1. Relación y definición de las variables

5.1.1. Variable dependiente: PROTEINA S100B

Es esta nuestra variable de respuesta observada en el estudio. Es la variable que pretendíamos medir. Se trata de una variable cuantitativa continua. Se determinó su nivel en sangre midiéndose en nanogramos por litro (ng/l).

Como se ha comentado ampliamente en la introducción, ésta proteína se utiliza en la actualidad como marcador de daño cerebral en situaciones clínicas en las que se cree que existe una implicación del sistema nervioso central.

En el planteamiento de la hipótesis explicamos cómo creemos que si la exposición a anestésicos produce un daño cerebral éste podría ser medido determinando ésta proteína en sangre.

5.1.2. Variables Independientes:

Son el resto de variables que podrían haber influido, en un modo u otro, en la respuesta de nuestra variable dependiente. También se denominan variables explicativas o factores de estudio.

5.1.2.1 EDAD. Variable cuantitativa continua (rango de 0 a 14). La gran preocupación de los sanitarios es no dañar con nuestras actuaciones. Desgraciadamente se ha demostrado en trabajos realizados en niños que sí que existe un déficit en la adquisición de habilidades en niños que fueron sometidos a anestesia. De igual modo que existen picos de edad de vulnerabilidad en los animales estudiados, nos interesa establecer alguna correlación entre la edad y el mayor o menor daño anestésico en nuestros niños.

5.1.2.2 GÉNERO. Variable cualitativa dicotómica (masculino o femenino). Aunque he comentado en la introducción algunos trabajos en los que se descartó la influencia del género en las variaciones de la proteína S100b, nos pareció interesante validar esta independencia desde un principio.

5.1.2.3 DURACIÓN DE LA EXPOSICIÓN. Variable cuantitativa continua (en minutos). Existe relación entre la duración de la exposición al agente anestésico y la cantidad de daño neuronal, si bien esto está establecido en modelos animales y midiendo la actividad de la caspasa 3. Como describimos anteriormente, la elevación de las cantidades de proteína S100B, por encima de un umbral indica daño cerebral. Queremos explorar con esta variable si a mayor duración de la intervención, mayor concentración de proteína S100B que indicaría mayor daño neuronal. En ocasiones el aumento de la duración de la intervención está relacionada con problemas quirúrgicos, de material, problemas técnicos, o imprevistos. En otras ocasiones, los profesionales son médicos especialistas en formación, por tanto con falta de experiencia profesional. De cualquier modo, y entendiendo que el tiempo de duración de una intervención no puede ser calculado de antemano, queremos establecer una posible relación entre la mayor duración de la exposición a la anestesia y el mayor daño cerebral.

5.1.2.4 INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA. La amigdalectomía y adenoidectomía es la intervención electiva más frecuente en cirugía otorrinolaringológica, las indicaciones para su realización son infección recurrente de adenoides o amígdalas (suelen indicarse tras seis episodios infecciosos al año), absceso periamigdalino agudo o apnea obstructiva del sueño, los pacientes son habitualmente niños de entre 3 y 6 años. La amigdalectomía ha experimentado muchas variaciones en la técnica desde sus inicios en los que se realizaba con anestesia local, resecano el tejido amigdalino con disección clásica. Posteriormente aparecen resección con asa de alambre y los amigdalotomos de Sluder y Daniels, hasta llegar a las técnicas actuales (electrocauterio monopolar, radiofrecuencia en niños y láser CO2 en adultos), orientadas a disminuir el tiempo quirúrgico al producir menor sangrado y menor necesidad de hemostasia.

5.1.2.5 FÁRMACOS ADMINISTRADOS. Todos los fármacos expuestos a continuación han sido estudiados en modelos animales, y con todos ellos se ha detectado un aumento de la neuroapoptosis en el SNC. Todos se emplean en la práctica anestésica habitual. Se pretende explorar con esta variable si existe un dintel (umbral), o cifra a partir de la cual la intervención ofrezca peores resultados.

5.1.2.5.1 Midazolam. Variable cuantitativa continua (miligramos por kilogramo - mg/kg). Esta benzodiazepina es el ansiolítico más ampliamente utilizado en la premedicación anestésica.

5.1.2.5.2 Fentanilo. Variable cuantitativa continua (microgramos por kilogramo- $\mu\text{g}/\text{kg}$). Para el manejo del dolor intraoperatorio y postoperatorio inmediato se recurre a éste opioide, que por su potencia y su farmacocinética encaja perfectamente en la amigdalectomía.

5.1.2.5.3 Propofol. Variable cuantitativa continua (mg/kg). Es el hipnótico por excelencia, tanto en niños como en adultos. Se administra de modo intravenoso una vez el niño ha perdido la conciencia inhalando sevoflurano, con el fin de profundizar la anestesia y facilitar el aislamiento de la vía aérea, bien con una mascarilla laríngea o con un tubo orotraqueal.

5.1.2.5.4 Sevoflurano: variable cuantitativa dicotómica (si o no). Este agente hipnótico inhalatorio no se mide en unidades. Se establece siempre una concentración alveolar mínima. Ésta siempre es la misma para niños y se entiende que es 1%. Es por ello que el estudio de esta variable se hace midiendo si existió exposición al sevoflurano o no.

5.2 Procedimiento

Para la realización de este proyecto contamos con la colaboración de un médico interno residente (MIR) y dos facultativos especialistas de área (FEA), uno del área de anestesiología y otro del área de bioquímica. Los pacientes incluidos en este estudio no se sometieron a ninguna intervención diferente a las que habitualmente se realizan en este hospital, salvo la cuantificación de algunos parámetros bioquímicos. El hecho diferencial es que se recogieron los resultados en una tabla de variables especialmente diseñada para este trabajo cuyos resultados se estudiaron posteriormente. Los padres/tutores de los pacientes fueron informados en la consulta de preanestesia acerca de la finalidad del estudio y de las personas implicadas en él. En la consulta de preanestesia se les solicitó firmar la autorización para que su hijo o hija fuese incluido en el estudio. También se les proporcionó una copia de la autorización que incluía una breve descripción del objeto del estudio a realizar. En el consentimiento informado se les ofrecía la posibilidad de rechazar la inclusión de su hijo en el proyecto o incluso de revocarlo en cualquier otro momento. La mañana de la intervención no se le comunicó al anestesiólogo que su paciente pertenecía al estudio.

5.2.1 Muestra basal, ó muestra 1

El día que el niño acudía a la consulta de preanestesia se extraía una primera muestra de sangre, mediante punción venosa periférica extraída en tubo de suero con gel separador (Vacuette®). En ella, además de los parámetros preanestésicos habituales (recuento de plaquetas, nivel de hemoglobina, tiempos de coagulación, parámetros de función renal y

hepática), se solicitó la determinación del nivel de proteína S 100b. Esta sería nuestra determinación basal, la primera. Diariamente existía comunicación entre el FEA y el MIR para evaluar la inclusión de niños, comprobar la existencia del consentimiento informado por parte de sus responsables y el recogido-procesado de la bioquímica.

Disponíamos de un listado de los niños en lista de espera quirúrgica programados para adenoidectomía y adenoamigdalectomía, con la fecha en la que acudirán a la consulta de preanestesia, facilitado por el Director de la Unidad de Gestión Clínica Bloque Quirúrgico. La directora de la Unidad de Gestión Clínica de Otorrinolaringología también fue informada desde un principio de la realización de éste proyecto y brindó desde ese momento su total colaboración.

5.2.2 Manejo intraoperatorio

Los pacientes ingresaban el día antes o la mañana de la intervención, siguiendo instrucciones del centro hospitalario. A su llegada al antequirófano, y siempre acompañados por sus responsables, se procedía a comprobar la correcta identificación del niño, la hoja de preanestesia con el visto bueno de apto para programación quirúrgica y se comprobaba la constancia del consentimiento informado y la autorización de los responsables. Este trabajo lo realizaba el MIR de anestesiología. El niño debería estar en ayunas de 6 horas para alimentos sólidos y de 2 horas para líquidos claros. Si se detectaba un nivel de ansiedad elevado, el FEA de anestesiología optaba por premedicar con midazolam vía oral o intranasal.

Durante unos 10 minutos permanecían junto a sus responsables en la zona de intercambio de camillas del área quirúrgica, a la espera del efecto ansiolítico máximo del midazolam. Se trasladaban a quirófano acompañados por la enfermera adjudicada al quirófano de otorrinolaringología, bien en la cama o bien cogido en brazos.

A su llegada al quirófano se procedía a una inducción inhalatoria con sevoflurane a concentraciones de entre 4-6% hasta la pérdida de conciencia, a través de una mascarilla facial ajustada a la cara del niño. Tras la pérdida de conciencia, hecho que ocurría en los primeros 30 segundos, se procedía a la canalización de una vía venosa periférica. Se monitorizaba de manera estándar, lo cual incluía tensión arterial no invasiva y no continua (cada 5 minutos), valor de carbónico al final de la espiración (EtCO₂), frecuencia cardíaca a través de registro electrocardiográfico continuo y saturación de oxígeno en sangre capilar utilizando un pulsioxímetro.

El manejo anestésico se realizaba según el arte de cada anestesiólogo responsable. Los fármacos más comúnmente empleados eran: atropina como parasimpaticolítico para prevenir las posibles respuestas vagales exageradas en la población pediátrica, fentanilo para el control del dolor intraoperatorio, rocuronio como relajante muscular para facilitar la intubación del paciente y su adaptación a la máquina de respiración mecánica, propofol como hipnótico y sevoflurane como agente para el mantenimiento de la inconsciencia. Según las preferencias del profesional se aseguraba la vía aérea, bien con una mascarilla laríngea flexible o con un tubo orotraqueal anillado, siempre adecuado al peso y tamaño del niño.

Terminada la inducción anestésica, el otorrinolaringólogo procede a realizar la intervención quirúrgica. A continuación se describirán brevemente los procedimientos quirúrgicos realizados:

5.2.2.1 Adenoidectomía:

- a. Intubación orotraqueal o con mascarilla laríngea:
- b. Colocación de abreboca de Davis, se procede a adenoidectomía con adenótomo de Beckman. Hemostasia del lecho con compresión y agua oxigenada. Se corrobora ausencia de sangrado.

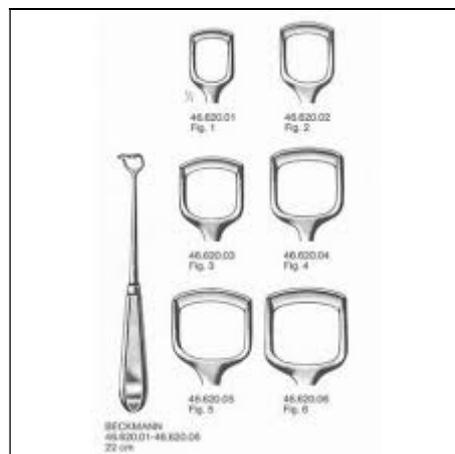


Figura 29. Adenótomo de Beckman

5.2.2.2 Adenoamigdalectomía:

a. Intubación orotraqueal o con mascarilla laríngea: con cualquiera de los dos dispositivos conseguimos asegurar un buen intercambio gaseoso y un aislamiento de la vía digestiva. Ambos son flexibles y de material plástico desechable.

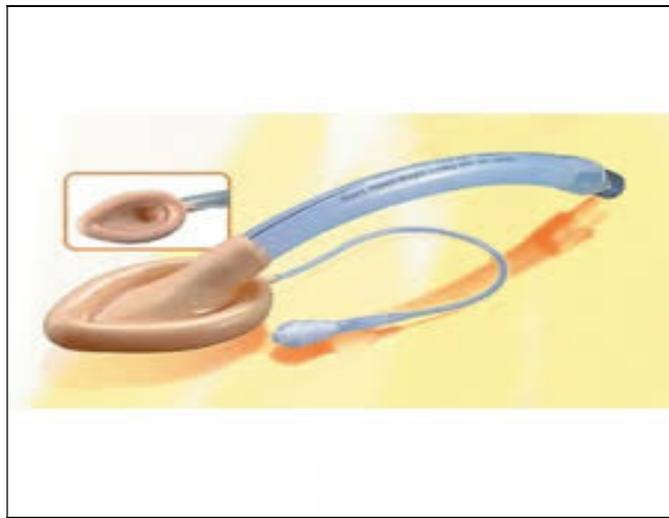


Figura 30. Mascarilla laríngea flexible pediátrica

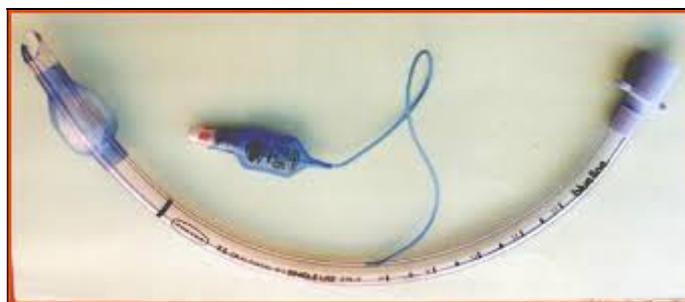


Figura 31. Tubo orotraqueal pediátrico

- b. Colocación de abreboca de Davis
- c. Se procede a adenoidectomía con adenótomo de Beckman. Hemostasia del lecho con compresión y agua oxigenada. Se corrobora ausencia de sangrado.
- d. Se realiza amigdalectomía, con resección de 3-5 mm de pilares amigdalinos anteriores, con electrobisturí a 15 watts.
- e. Se realiza hemostasia de lechos con bipolar



Figura 32. Abrebocas de Davis



Figura 33. Abrebocas colocado en niños con hipertrofia amigdalal



Figura 34. Electrobisturí



Figura 35. Bisturí bipolar

5.2.3 Muestra postanestesia, postexposición ó muestra 2

Al finalizar la intervención quirúrgica y aún con el niño bajo anestesia, se obtuvo una segunda muestra sanguínea (de la vía venosa canalizada anteriormente), extraída en tubo de suero con gel separador (Vacuette®), que también se remitiría al laboratorio.

El MIR que realizaba su rotatorio en el área de otorrinolaringología y la FEA asignada a dicho quirófano tenían como objetivo la obtención de la muestra de sangre al finalizar la intervención quirúrgica. Dichas muestras se remitieron en ese mismo instante al laboratorio de bioquímica del hospital donde fueron recepcionadas y procesadas. Todo el manejo de las muestras en el área de bioquímica contó con la supervisión del Dr. J.D. Santotoribio.

Una vez concluido todo el procedimiento, se procedía a la educación anestésica, comúnmente conocido como "despertar". El niño ya despierto era trasladado a la sala de recuperación postanestésica donde permanecía acompañado por su responsable hasta el momento del alta a planta.

6. MÉTODO ANALÍTICO

Las muestras sanguíneas "basal" y "postexposición" de cada paciente se centrifugaron durante 4 minutos a 4000 revoluciones por minuto para obtener suero.

Se determinó en suero de ambas muestras la concentración de la proteína S100B mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA) en el autoanalizador MODULAR E-170 (Roche Diagnostics®), con valores de referencia para la normalidad entre 5 y 105 ng/L.



Figura 36. Personal y laboratorio de Bioquímica del HUPR

Nota: 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 [μ g/l]

7. MÉTODO ESTADÍSTICO

Estudio cuasiexperimental del tipo antes-después con muestra recolectada prospectivamente y realizado en el ámbito asistencial del Hospital Universitario de Puerto Real con enfermos procedentes de las UGC de Otorrinolaringología.

De ese modo, siguiendo rigurosamente los criterios de inclusión y exclusión establecidos, conseguimos un grupo homogéneo y concreto que se sometería a un factor de exposición: el acto anestésico. El proyecto fue diseñado de tal modo que obtuviéramos una medición previa a la intervención y otra con posterioridad a la misma, ajustando el estudio en un antes y después.

Aunque la relación causal no tiene el nivel de certeza alcanzado en los estudios experimentales, sí es posible con este tipo de estudios inferir una relación causal entre las variables independientes y la dependiente. Entendimos que una de las limitaciones de este tipo de estudio era la de carecer de un grupo control, o de una aleatorización de los individuos, pero evidentemente no era viable disponer de un grupo control de niños intervenidos quirúrgicamente sin estar expuestos a la anestesia.

7.1 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se procesaron mediante los programas estadísticos SPSS® y MEDCALC®, siendo considerada significación estadística una $p < 0,05$.

7.1.1 Distribución.

Al desconocer a priori la distribución que seguirían nuestras variables, puesto que en la literatura no aparecen estudios de características similares al nuestro, y debido a la gran incertidumbre que existe con respecto a la utilidad de la variable dependiente en los resultados, optamos por someter nuestras variables al test D'Agostino-Pearson aceptar o rechazar su distribución normal.

7.1.2 Estadística descriptiva.

La estadística descriptiva se utiliza con el fin de recolectar los datos de un estudio, ordenarlos y representarlos. Para ello se miden las frecuencias de las variables cualitativas y valores máximo y mínimo. Como medidas de centralización analizamos la media aritmética, la mediana, la desviación estándar y el rango intercuartílico de las variables cuantitativas. Con este tipo de trabajo estadístico podemos analizar cómo se comportan los valores de las variables con respecto a un punto central o cuan dispersas están de éste.

7.1.3 Test de correlación y asociación estadística

Para analizar si los cambios en una variable del estudio influyen en el comportamiento de una segunda variable, evaluando así la dependencia de esas dos variables, empleamos pruebas de correlación estadística. La correlación entre las variables con distribución normal se analizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson, y entre las variables con distribución no gaussiana el coeficiente del rango de correlación Rho de Spearman.

Con el objetivo de comparar si hubo diferencias entre las distribuciones entre grupos realizamos el análisis de la prueba de varianza para las variables con distribución normal. Para las variables con distribución no gaussiana se utilizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para datos independientes y el test de Wilcoxon para datos apareados.

8. CRONOGRAMA

- Inicio del proyecto: Abril de 2014
- Presentación al Servicio de Anestesiología y a la Comisión de investigación y ética del hospital: Mayo del 2014
- Presentación del proyecto a la comisión de doctorado: Abril 2015
- Fase de pilotaje: primera quincena de Mayo de 2015
- Recogida y procesamiento de datos: hasta Julio de 2015
- Fin del proyecto: Octubre de 2015
- Depósito de la documentación requerida en la Universidad de Granada: Noviembre de 2015
- Lectura y defensa de la tesis: Febrero de 2016

V. RESULTADOS

Se incluyeron un total de 76 pacientes, 46 varones y 30 hembras, con edades comprendidas entre 3 y 14 años (mediana: 5 años) y peso corporal entre 13 y 75 Kg (mediana: 21 Kg). Todas las variables estudiadas siguieron una distribución no gaussiana. Mediante la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre varones y hembras 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 todos los pacientes, los niveles de proteína S100B sérica aumentaron tras la anestesia general (mediana = 58 ng/L). Los valores obtenidos de S100Bp (mediana = 164,0 ng/L) fueron mucho mayores que los obtenidos de S100Bb (mediana = 94,5 ng/L). Mediante el test de Wilcoxon para datos apareados encontramos diferencias estadísticamente significativas entre S100Bb y S100Bp ($p < 0,0001$).

Resultó correlación directamente proporcional entre S100Bp-b y la dosis total suministrada de fentanilo, rango de correlación Rho de Spearman = 0,317 ($p = 0,006$). No se obtuvo correlación entre S100Bp-b y las dosis totales suministradas de midazolam o propofol ($p > 0,05$). Se encontró correlación inversamente proporcional entre S100Bp-b y el tiempo de exposición a los fármacos anestésicos, rango de correlación Rho de Spearman = -0,237 ($p = 0,0405$).

1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

1.1 EDAD en años

EDAD	Total	Mínima	Máxima	Mediana	RI
Hombres	46	3	14	5	3
Mujeres	30	3	9	5	2
TOTAL	76	3	14	5	2

Tabla 1. Variable con distribución no normal según resultados del test de D'Agostino Pearson

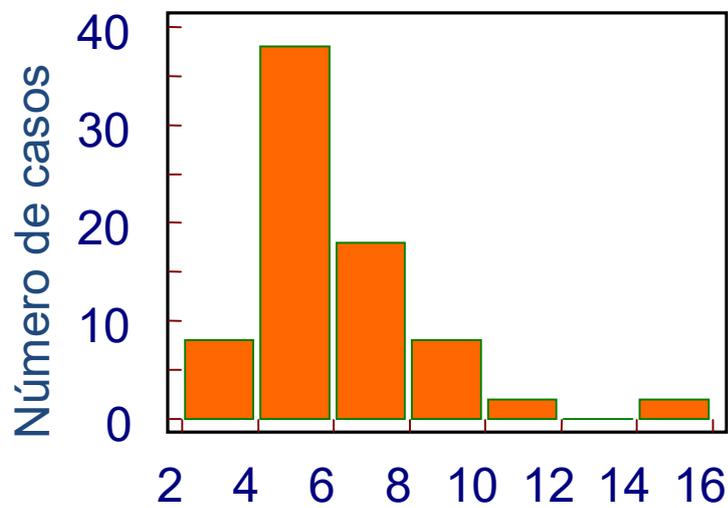


Gráfico 1. Distribución de la edad en años

1.2 PESO en kilogramos

PESO	Total	Mínima	Máxima	Mediana	RI
Hombres	46	13	75	22	15
Mujeres	30	13	33	20	11
TOTAL	76	13	75	21	12

Tabla 2. Variable con distribución no normal según resultados del test de D'Agostino Pearson

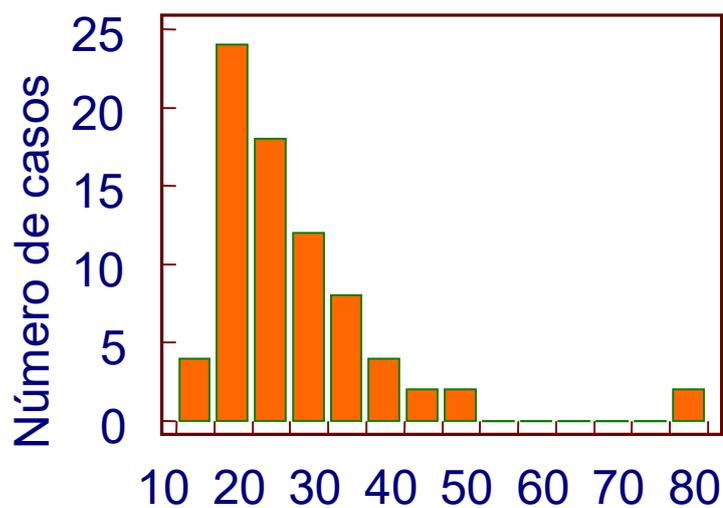


Gráfico 2. Distribución del peso en kg.

1.3 PROTEINA S 100B BASAL en ng/L

S100 B BASAL	Mínima	Máxima	Mediana (IC 95%)	RI
Hombres	47	205	94	41
Mujeres	41	150	95	44
TOTAL	41	205	94.5 (89-103)	41.8

Tabla 3. Variable con distribución no normal según resultados del test de D'Agostino Pearson

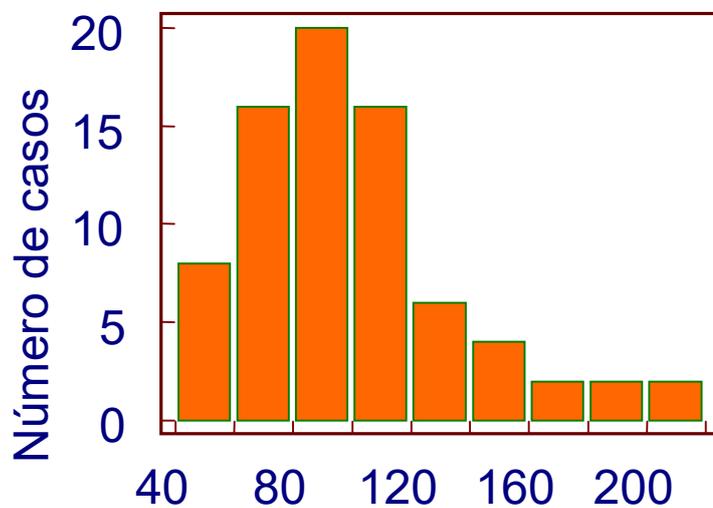


Gráfico 3. Distribución de la S100B b en ng/l

1.4 PROTEINA S 100B POSTANESTESIA en ng/L

S100 B BASAL	Mínima	Máxima	Mediana (IC 95%)	RI
Hombres	74	1052	159	95
Mujeres	57	399	169	89
TOTAL	57	1052	164 (145-189)	149

Tabla 4. Variable con distribución no normal según resultados del test de D'Agostino Pearson

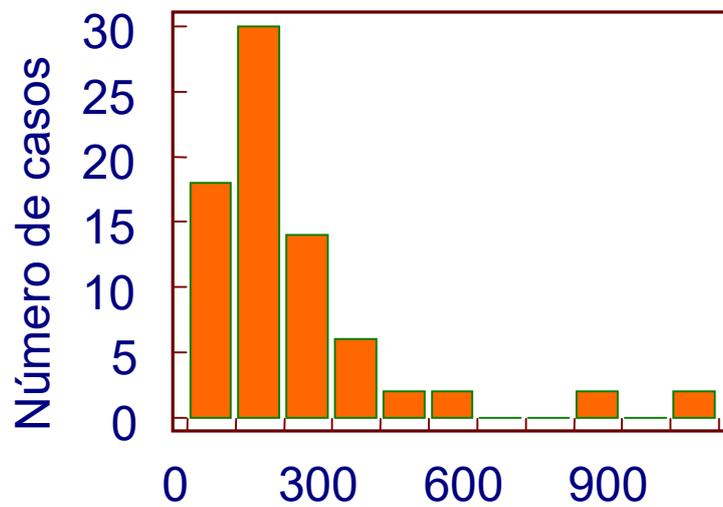


Gráfico 4. Distribución de la S100B p en ng/l

1.5 PROTEINA S 100B POSTANESTESIA-BASAL en ng/L

S100 PB	Mínima	Máxima	Mediana (IC 95%)	RI
Hombres	10	955	61	153
Mujeres	7	304	42	120
TOTAL	7	955	58 (42-75)	136

Tabla 5. Variable con distribución no normal según resultados del test de D'Agostino Pearson

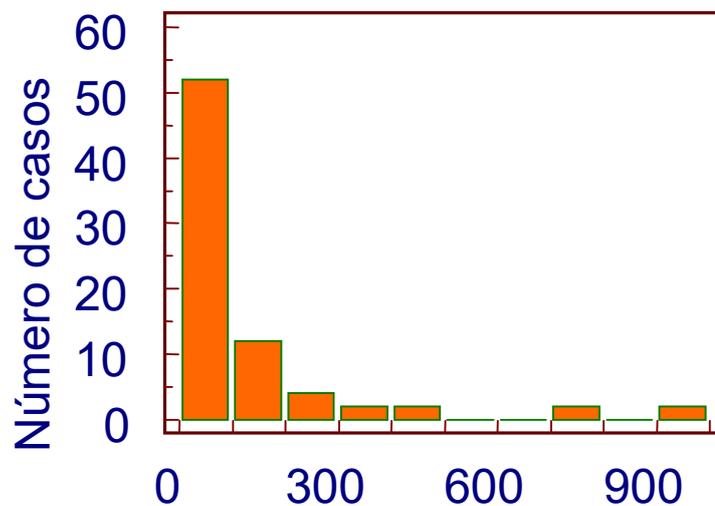


Gráfico 5. Distribución de la S100B pb

1.6 TIEMPO DE EXPOSICIÓN en minutos

TIEMPO	Mínima	Máxima	Mediana	RI
Hombres	15	80	39	20
Mujeres	15	75	40	20
TOTAL	15	80	40	15

Tabla 6. Variable con distribución no normal según resultados del test de D'Agostino Pearson

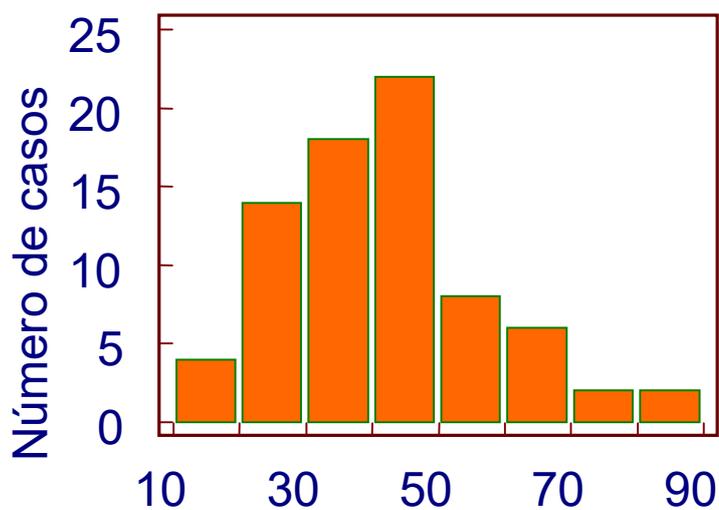


Gráfico 6. Distribución del tiempo en minutos

1.7. DOSIS TOTALES DE FÁRMACOS ANESTÉSICOS INTRAVENOSOS ADMINISTRADOS

FÁRMACOS	Total pacientes	Mínima	Máxima	Mediana (IC 95%)	RI
Midazolam (mg)	52	3	6	5 (4-6)	1
Fentanilo (µg)	76	20	225	60 (60-75)	40
Propofol (mg)	36	20	200	50 (30-70)	15

Tabla 7. Variable con distribución no normal según resultados del test de D'Agostino Pearson

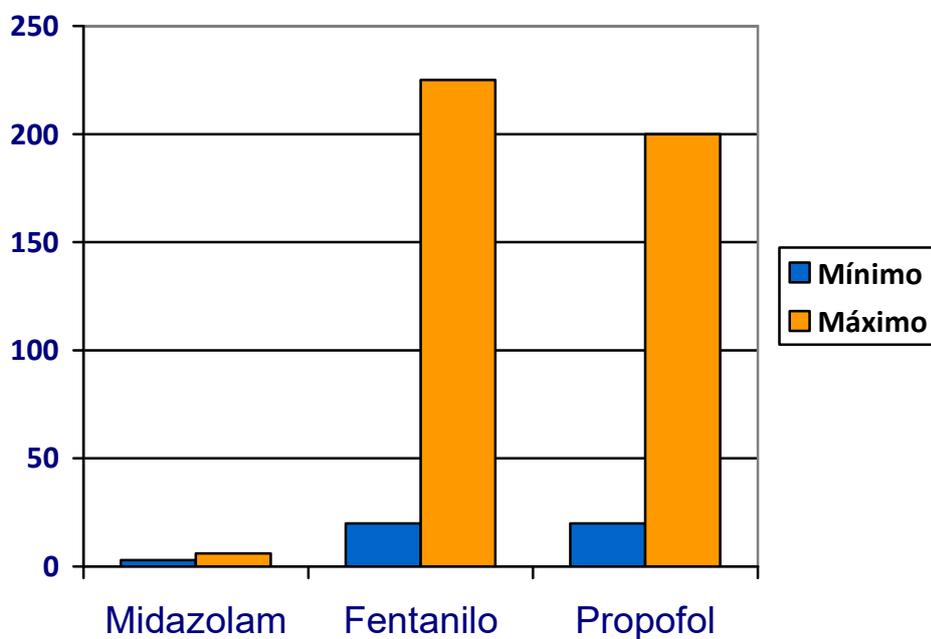


Gráfico 7. Distribución de los fármacos intravenosos empleados.

2. ESTADÍSTICA INFERENCIAL

2.1 Test de Correlación

EDAD

Rho de Spearman		
S100B basal	-0.098	IC95% (-0.316, 0.131)
S 100B post	-0.062	IC95% (-0.284, 0.165)
S 100B pb	-0.12	IC95% (-0.336, 0.109)

Tabla 8. En ninguna de ellas se observaron diferencias estadísticamente significativas.

2.2 Test de Independencia

GÉNERO

U de Mann-Whitney		
S100B pb	0.604	IC 95%
		(0.486, 0.715)

Tabla 9. En ninguna de ellas se observaron diferencias estadísticamente significativas.

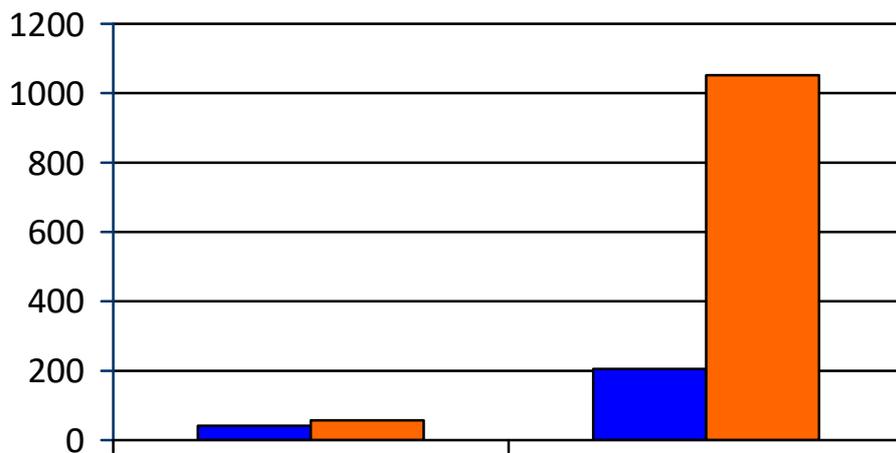
2.3 Comparación entre grupos

Test de Wilcoxon	Valor mínimo	Valor máximo	Mediana
S100B basal	41	205	94.5 IC95%(89, 103)
S 100B post	57	1052	164 IC95%(145, 189)
P<0.0001			

Tabla 10. Diferencias significativas entre la proteína S 100 basal y la proteína S 100 postexposición (ng/l)

Prueba U de Mann Whitney	Valor mínimo	Valor máximo	Mediana
S100B basal	41	205	94.5 IC95% (89, 103)
S 100B post	57	1052	164 IC95% (145 ,189)
P<0.0001			

Tabla 11. Diferencias significativas entre la proteína S 100 basal y la proteína S 100 postexposición (ng/l)



S100B b	41	205
S100B p	57	1052

Gráfico 8. Diferencias entre los niveles mínimos y máximos de las determinaciones basales y postexposición de la proteína S 100 B (ng/l)

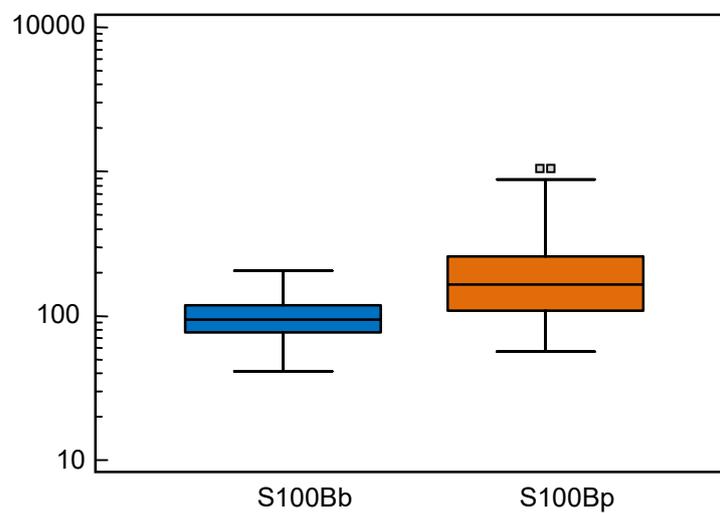


Gráfico 9. Diferencias entre los niveles mínimos y máximos de las determinaciones basales y postexposición de la proteína S 100 B (ng/l)

2.3 Correlación con el tiempo de duración de la exposición (minutos)

Rho de Spearman		
S100B pb	-0.237	IC95%(-0.439,-0.012)

Tabla 12. En ninguna de ellas se observaron diferencias estadísticamente significativas.

2.4 Correlación con la exposición a fármacos

Rho de Spearman	S 100B pb
Propofol total mg	-0.217 IC95% (-0.422, 0.009)
Fentanilo total µg	0.317 IC95% (0.099, 0.507) P=0.0060
Midazolam total mg	0.183 IC95% (-0.044,0.392)

Tabla 13. Se obtiene coeficiente de asociación positivo en la dosis total de fentanilo y de midazolam, con valores dentro del intervalo de confianza.

VI. DISCUSIÓN

Son aproximadamente 6 millones de niños los que reciben algún tipo de anestesia cada año en los Estados Unidos de América. En Europa se estima que la población menor de 16 años está alrededor del 20%.^(85,86,87) Con éste volumen de pacientes circulando por nuestros quirófanos y con la cantidad de bibliografía surgida en relación a los efectos neurotóxicos de la anestesia en niños, es lógico que un gran número de profesionales estén especialmente sensibilizados con este tema.

1. Modelos animales

Desde que se vienen publicando en la literatura resultados de trabajos preclínicos en modelos animales acerca de la neurotoxicidad postanestésica en el cerebro en desarrollo, van surgiendo en la literatura estudios en humanos, analizando resultados en pruebas de desarrollo cognitivo que comienzan a ser evaluadas en éste último año y, aunque se dispone de resultados preliminares, los definitivos aún no han sido publicados.

Con los trabajos experimentales en animales (ratas, monos y cerdos) se ha conseguido demostrar que la exposición de un cerebro en desarrollo a distintos fármacos anestésicos durante un período crítico de desarrollo conlleva apoptosis neuronal, inhibición de la neurogénesis, alteración del correcto desarrollo del árbol dendrítico y de la formación de sinapsis.^(88,89) En ratas este período crítico al que hacemos referencia corresponde al 7º día postnatal y en primates no humanos al 5º día y coinciden con picos de formación y desarrollo de las sinapsis interneuronales.⁽⁹⁰⁾ Todas estas alteraciones que podemos estudiar *in vitro*

también han sido correlacionadas con déficits funcionales y defectos en el neurodesarrollo en los animales expuestos in vivo. Se han descrito alteraciones persistentes en las áreas de la memoria y el aprendizaje en ratas jóvenes que fueron expuestas a anestesia general cuando eran pequeñas. ^(91, 92,93)

Los modelos animales señalan claramente a los fármacos antagonistas de los receptores NMDA y los agonistas del receptor GABA -A como responsables de los fenómenos de neuroapoptosis extensas en sus cerebros. ^(94,95) Además estos trabajos in vitro han demostrado una relación dosis dependiente ante la administración de drogas como la ketamina, el propofol, y el isoflurane. Se encontraron peores resultados en animales expuestos a altas dosis de anestésicos, durante períodos más prolongados y ante repetición de dosis. Otro hecho constatado gracias a estos estudios preclínicos es que los efectos neurotóxicos tuvieron más impacto cuando la exposición fue a un combinado de drogas anestésicas que tienen como lugar de acción los dos receptores mencionados anteriormente. ^(96,97)

2. Estudios en humanos

Desde el año 2007 hasta la actualidad se han publicado los resultados de cinco ensayos clínicos acerca de los efectos en el neurodesarrollo en niños expuestos a anestesia en su primera infancia.

En el año 2009, el servicio de anestesiología de la Clínica Mayo (Rochester, Minnessota) publicó los resultados de un estudio retrospectivo realizado a una cohorte de 5.320 niños. Analizaron las diferencias entre niños nacidos por parto vaginal, cesáreas bajo anestesia general y cesáreas bajo anestesia regional.⁽⁹⁸⁾ Utilizaron como herramienta de medida, la posible *discapacidad en el aprendizaje de tareas como; matemáticas, lenguaje y lectura, los resultados obtenidos con test para valorar el coeficiente intelectual y otras pruebas dirigidas a "alcanzar resultados"*. Este grupo de trabajo concluyó que no existía mayor riesgo de desarrollar una discapacidad en el aprendizaje tras haber estado expuesto el recién nacido a una anestesia general.

Estos mismos autores, utilizando la misma cohorte, analizaron la repercusión que tendría la exposición a la anestesia general antes de que los niños cumplieran 4 años de edad.⁽⁹⁹⁾ Así concluyen que cuando la exposición a la anestesia se repite (> de 2 intervenciones) ésta puede ser considerada como un factor de riesgo para el desarrollo de discapacidades en el aprendizaje.

También en ese mismo año pero en el Departamento de Epidemiología de la Universidad de Columbia, en Nueva York, se presentan los resultados de un grupo de 383 niños que fueron operados de hernia inguinal bajo anestesia general antes de cumplir los 3 años de edad.⁽¹⁰⁰⁾ Utilizando el sistema de codificación CIE-9 *retraso en el desarrollo o problemas de comportamiento*, se obtuvo un aumento del riesgo de obtener ese diagnóstico de 2.3 veces más en la población expuesta comparada con la no expuesta.

Continuamos en el año 2009, pero ahora en universidades europeas. De igual modo que en los grupos americanos, el Departamento de Anestesiología de la Universidad de Utrech, en Holanda, administró a los padres de niños sometidos a intervenciones quirúrgicas urológicas bajo anestesia general, el Child Behavior Checklist.⁽¹⁰¹⁾ Los niños se intervinieron con edades comprendidas entre 0 y 6 años; en el año 2009 tenían entre 12 y 15 años. Los resultados hablan de un comportamiento anormal en niños que se anestesiaron antes de los 24 meses comparados con los que lo hicieron más tarde.

También en Holanda, pero ahora en la universidad de Ámsterdam, el Departamento de Biología presenta los resultados de un estudio realizado en 1143 parejas de gemelos monocigóticos en los que uno de los hermanos fue sometido a anestesia antes de cumplir 3 años de edad.⁽¹⁰²⁾ En ellos, se informa de que los expuestos tienen *menores logros académicos*, utilizando el Young Netherlands Twin Registry.

Actualmente hay importantes estudios prospectivos en marcha intentando esclarecer el tema de la neurotoxicidad anestésica en niños: el estudio MASK, el estudio GAS y el estudio PANDA.

El primero de ellos, el Mayo Anesthesia Safety in Kids (MASK), se lleva a cabo en la Clínica Mayo en colaboración con el Centro de Investigaciones Toxicológicas de la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica. Pretende enrolar a un total de 1000 niños que se hayan sometido al menos a una exposición anestésica antes de cumplir los 3 años de edad. Para evaluar la presencia de algún déficit cognitivo se empleará el Operant test battery de la NCTR utilizada anteriormente en primates.⁽¹⁰³⁾ En él se pide al niño

que haga una serie de repeticiones, de emparejamiento y de discriminar colores y posiciones. Las principales variables que este estudio pretende correlacionar con la exposición previa a la anestesia general, son la duración total del procedimiento, la edad de los niños y la repetición de la exposición a la anestesia. Uno de las limitaciones que comentan los autores de este trabajo es la no disponibilidad de los resultados del mismo test cognitivo efectuado antes de la intervención quirúrgica

El estudio GAS es un estudio analítico del tipo ensayo clínico, prospectivo y multicéntrico. El patrocinador del estudio es el Children's Hospital de Boston y participan hospitales de Australia, Canadá, Italia, Reino Unido y otros hospitales norteamericanos. Tiene como puntos fuertes el ser prospectivo, randomizado y a doble ciego. En él se analizan las diferencias en niños que se intervinieron de hernia inguinal, bien bajo anestesia general con sevoflurane o bien bajo anestesia regional buscando efectos en los resultados del neurodesarrollo y el índice de apneas infantiles.⁽¹⁰⁴⁾ En el año 2014 se habían incluido a 722 niños. La anestesia regional es con técnicas caudales o subaracnoideas complementadas con el bloqueo ilioinguinal con bupivacaína al 0,25% (2.5 mg/ml). La anestesia general se proporciona con sevoflurano con fracción inspirada al 8% hasta la pérdida de conciencia. A los 2 años de la exposición anestésica (2015) se explorará el desarrollo neurocognitivo utilizando la Bayley Scale for Infant Development III y a la 5 años de la operación quirúrgica (2017) se les someterá al Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence III y a otros test neuropsicológicos como el NEPSY III

A la espera de resultados finales, de haberse creado un subgrupo de anestesia regional añadiendo fentanilo a la bupivacaína, se podrían haber comprobado los efectos

neurotóxicos de los opioides intratecales descritos por otros autores. Además, en la metodología, si la fracción inspirada de sevoflurano se mantuvo al 8%, cosa que nos parece desaconsejada en nuestro medio, o si se bajó tras la pérdida de consciencia a un 3 ó 4%.⁽¹⁰⁵⁾ Desconocemos si al grupo de niños intervenidos bajo anestesia regional se les administró alguna benzodiazepina como ansiolítico en el preoperatorio o si se empleó algún tipo de medicación sedante para poder realizar la punción raquídea o caudal, hecho comúnmente realizado en nuestra práctica diaria.

El tercer estudio que mencionaré es el PANDA (Pediatric Anesthesia and NeuroDevelopment Assessment) liderado por la Universidad de Columbia en Nueva York y cofinanciado por la FDA.⁽¹⁰⁶⁾ Al igual que el anterior, se trata de un trabajo prospectivo y multicéntrico (hospitales norteamericanos de Boston, Chicago, Cincinnati, Pittsburg y Michigan). En él se evalúan las funciones de la esfera neuropsicológica en parejas de gemelos en los que uno sí se expuso a la anestesia para una intervención quirúrgica y el otro no. La exposición fue antes de los 3 años de edad, en una única ocasión y con el fin de reparar una hernia inguinal. El tamaño muestral inicial propuesto fue de 240 parejas de gemelos pero a finales de 2014 éste era de 116. También se utilizó el NeuroPsychological assessment test, NEPSY, pero esta vez en su versión II.⁽¹⁰⁷⁾ Actualmente los niños incluidos en el estudio tienen entre 8 y 15 años de edad y es ahora cuando se comenzarán a llevar a cabo los test NEPSY II.

Los estudios mencionados, aunque tienen como punto fuerte su diseño y su amplio tamaño muestral, comparten como limitación el método para evaluar los déficits de aprendizaje. No existe un único cuestionario estandarizado y aprobado por todas las

instituciones sanitarias que mida de una manera concreta y homogénea el grado de discapacidad. En algunos casos estos cuestionarios son administrados a los padres de los niños conllevando cierta subjetividad en las respuestas. Otros intentan evaluar diferentes áreas de habilidades como las matemáticas, la lengua o la lectura. Estas capacidades tienen bases anatómicas cerebrales diferentes que han podido ser afectadas por la exposición anestésica de manera distinta. Los estudios americanos no contemplan las grandes diferencias raciales y culturales que existen en su población. Por último, los agentes anestésicos que se emplearon en esos años, como el halotano o el óxido nitroso, han sido desbancados por nuevos agentes como el sevoflurano. Por lo tanto estamos obteniendo resultados de exposición a fármacos que ya no se emplean. A pesar de estos matices que comentamos, sin duda los resultados que finalmente se obtengan serán referencias obligadas para posteriores ensayos. Pero, deberán ser interpretados cada uno de forma independiente, ya que la metodología empleada no es homogénea en ningún sentido.

3. Nuestros resultados

La necesidad de llevar a cabo estudios en seres humanos, que determinen hechos concretos relacionados con una supuesta neurotoxicidad inducida por la exposición a una anestesia general es una cuestión que se repite en las conclusiones de muchos de los trabajos realizados en animales o en humanos donde lo que se evaluaba eran resultados en el área del comportamiento y la adquisición de habilidades cognitivas.

En este sentido nuestro estudio quiere aportar la utilización de un marcador sanguíneo que posea las cualidades de este tipo de sustancias: poder ser medido objetivamente, con un método rápido y reproducible en otros centros, ser económicamente rentable y tener gran especificidad y sensibilidad. Lo que pretendemos evaluar es la utilidad de la proteína S 100 B como biomarcador de efecto, es decir, algo que nos mida de manera precoz cambios funcionales o estructurales en los tejidos afectados. Hay una necesidad entre los clínicos, anestesiólogos, pediatras, neurólogos y cirujanos de disponer de marcadores de daño neuronal.⁽¹⁰⁸⁾

En todos los pacientes incluidos en este estudio la S100Bp fue superior a la S100Bb, resultando un incremento significativo de la proteína S100B sérica tras la anestesia general (mediana = 58,0 ng/L). Un amplio número de publicaciones proponen a la proteína S100B como uno de los marcadores séricos más precisos de daño cerebral y relacionan directamente la concentración de proteína S100B sérica con la intensidad del daño cerebral^(109,110). Se ha observado un incremento de la concentración de proteína S100B sérica en pacientes con daño cerebral producido por traumatismo craneoencefálico^(111, 112,113) o infarto cerebral⁽¹¹⁴⁾, en la sepsis asociada a encefalopatía⁽¹¹⁵⁾, así como en recién nacidos prematuros con daño cerebral isquémico⁽¹¹⁶⁾ y en la encefalopatía hipóxico-isquémica del recién nacido⁽¹¹⁷⁾. En este trabajo, el incremento de la concentración de la proteína S100B sérica tras la exposición a los fármacos anestésicos puede indicar daño cerebral. Para la anestesia general de los pacientes de este estudio se ha utilizado una combinación de fármacos anestésicos (propofol, midazolam, fentanilo y sevoflurano), por lo que no se puede establecer una relación de daño cerebral con un determinado fármaco sino con la anestesia general en su conjunto. En cuanto a las dosis totales de los fármacos anestésicos suministrados, sólo se obtuvo correlación

significativa entre S100Bp-b y la dosis total de fentanilo, lo que indica que la intensidad del daño cerebral puede ser dependiente de la dosis total de fentanilo utilizada en la anestesia general. Resultó correlación inversamente proporcional de baja intensidad entre S100Bp-b y el tiempo de exposición a los fármacos anestésicos o duración de la intervención quirúrgica, por lo que, el tiempo de exposición a los fármacos anestésicos no aumenta la intensidad del daño cerebral. Esto puede ser indicativo de que el daño cerebral se produzca en la fase de inducción a la anestesia general. En los pacientes incluidos en este estudio se descartaron causas extracerebrales de elevación de la proteína S100B sérica, como la lesión muscular aguda ⁽¹¹⁸⁾ y el melanoma maligno ⁽¹¹⁹⁾, aunque entre las limitaciones de este trabajo está el que los pacientes fueron sometidos a la exposición de fármacos anestésicos y a la intervención quirúrgica de amigdalectomía, por lo que la propia cirugía podría influir en la elevación de la proteína S100B, pero no puede ser eliminada del estudio, debido a que no sería ético el someter a los pacientes a una anestesia general sin causa que lo justifique. El daño cerebral causado por la anestesia general puede ser debido a las alteraciones fisiopatológicas producidas por los fármacos anestésicos a nivel del SNC, como la disminución del FSC y del metabolismo cerebral, y a las producidas a nivel cardiorespiratorio, como la depresión de la función respiratoria y la disminución de la contractilidad miocárdica y de las resistencias vasculares periféricas. Estas alteraciones fisiopatológicas pueden llegar a producir hipoxia y apoptosis de células neuronales, dando lugar a daño cerebral. Todos los pacientes incluidos en este trabajo no presentaron manifestaciones clínicas de daño cerebral tras la anestesia general y amigdalectomía. Serán necesarios trabajos posteriores que sigan la evolución de estos pacientes y evalúen si el daño cerebral detectado por la elevación de la proteína S100B sérica llega a producir alteraciones clínicas. Llama la atención los valores obtenidos de proteína S100B sérica en la muestra basal de los pacientes incluidos en este estudio. En la población

normal los valores de referencia de la proteína S100B sérica con el método empleado en este trabajo son de 5 a 105 ng/L. La mediana obtenida de la S100Bb fue 94.5 ng/L, muy cercana al límite superior de referencia para la población normal, además en 26 de los 76 pacientes estudiados (34,2%) presentaron valores patológicos de S100Bb (>105 ng/L). En un estudio reciente ⁽¹²⁰⁾, resultó que la concentración de proteína S100B sérica fue significativamente mayor en pacientes con hipertrofia amigdalar que en un grupo control y concluyeron que la presencia de hipertrofia amigdalar puede ser causa de daño neuronal por obstrucción crónica de la vía aérea. Esto puede explicar los valores patológicos obtenidos de la proteína S100B sérica en la muestra basal de los pacientes incluidos en este trabajo. Por otro lado, la posibilidad de que la exposición a fármacos anestésicos produzca daño cerebral, plantea la necesidad de un tratamiento preventivo con protectores neuronales a todos los pacientes que sean sometidos a anestesia general. En conclusión, la proteína S100B puede ser utilizada como marcador sérico de daño cerebral postanestesia. La concentración de proteína S100B sérica aumentó significativamente tras la exposición a fármacos anestésicos, por lo que la anestesia general puede producir daño cerebral.

Nos parece sensato plantear si esta proteína, cuya determinación en sangre es técnicamente sencilla, y que se relaciona con la injuria al SNC, podría poner de manifiesto el daño neuronal relacionado con la exposición anestésica.

Se ha estudiado este biomarcador en numerosas intervenciones quirúrgicas. En un estudio desarrollado en conejos que presentaban fractura de fémur bilateral se constató una elevación de la S 100B de manera muy temprana en el perioperatorio. Este fenómeno se explicó como un falso positivo por la gran extensión de la fractura ⁽¹²¹⁾. En el año 2009 otro

grupo de trabajo presenta sus conclusiones tras estudiar a un grupo de pacientes intervenidos quirúrgicamente de mielopatía cervical crónica. La elevación de la proteína S 100 B tuvo una asociación con aquellos casos que tuvieron un posoperatorio complicado. Este mismo grupo llevó a cabo otro estudio en pacientes intervenidos de lesiones intradurales pero no obtuvieron resultados significativos en cuanto a la evolución postoperatoria ⁽¹²²⁾. También se han desarrollado investigaciones en pacientes intervenidos de reparación de aneurisma aórtico toracoabdominal. Se observó que aquellos pacientes postoperados que desarrollaron complicaciones neurológicas presentaban cifras más elevadas de S 100B. Sin embargo, esta elevación se detectó cuando ya había aparecido la clínica neurológica, por lo que se puede criticar con este artículo su capacidad de ser un biomarcador precoz ⁽¹²³⁾. En esta misma patología quirúrgica, otro pequeño trabajo desarrollado unos años antes, los niveles de proteína S 100 B se elevaron precozmente en pacientes con clínica neurológica y sin ella; sin embargo si se obtuvo una relación estadísticamente significativa con aquellos pacientes que sufrieron complicaciones neurológicas en el postoperatorio ⁽¹²⁴⁾.

Todos los estudios recogidos en el párrafo anterior y otros tanto que siguen en la misma línea, dan el salto de estudios de cortes histológicos de cerebros de animales a poder medir el daño cerebral directamente en el paciente. El hecho de poder objetivar dicha agresión ya es importante. Estudios que intenten establecer asociaciones entre variables que puedan tener repercusión en la magnitud de ese daño son los que se exigen desde la comunidad científica.

En el año 1996 se publicaron en la revista *Anesthesia Analgesia* los resultados de un trabajo de laboratorio realizado en ratas a las que se expuso a diferentes dosis de fentanilo,

una vez anestesiadas e intubadas. En los cortes histológicos de su cerebro se evidenciaba degeneración neuronal eosinofílica fundamentalmente en estructuras del sistema límbico. ⁽¹²⁵⁾

En el mismo sentido, y también en un grupo de trabajo brasileño, se publicó en febrero del 2015 la conclusión de un experimento realizado también en ratas. ⁽¹²⁶⁾ A una grupo se le administro durante 4 días una perfusión intrarraquídea de levobupivacaína y fentanilo, y al grupo control levobupivacaína y suero salino. Tras sacrificar los animales y teñir los cortes histológicos de médula espinal se pudo comprobar una gran diferencia de neuronas con degeneración eosinofílica (neuronas con degeneración neuronal irreversible) en el grupo que sí añadía fentanilo.

Un trabajo cuyos resultados han sido publicados en el 2014 habla en sus conclusiones de un aumento de la apoptosis de las células cancerígenas del cáncer colorrectal, pudiendo de esta manera inhibir el crecimiento tumoral. Se trata de un experimento realizado in vitro en ratones de laboratorio a los que se inocularon células cancerígenas en el tejido subcutáneo. ⁽¹²⁷⁾

En el congreso de la IARS (International Anesthesia Research Society) del 2012 celebrado en Boston se presentaron varios paneles en la mesa de trabajo de anestesia pediátrica y neonatal: seguridad y anestésicos. En uno de ellos (S-400) los autores, que provienen del Children's Hospital of Philadelphia, concluyeron que a mayor dosis de fentanilo (mediana de 309 $\mu\text{g}/\text{kg}$) durante todo su proceso, peores resultados en los test de coeficiente intelectual, velocidad de lectura, habilidades motoras finas y matemáticas. El trabajo se realizó en 96 niños intervenidos en más de una ocasión de hipoplasia del ventrículo

izquierdo desde el nacimiento hasta los 4 años de edad. Además, luego permanecieron tiempo en la unidad de cuidados intensivos. En otro panel (S-403) anestesiólogos del Women's and Children's hospital de Singapur presentaron los resultados de su cohorte retrospectiva de niños que eran anestesiados para procedimientos quirúrgicos menores (herniorrafias, circuncisión, o estenosis de píloro) antes de cumplir 1 año. Cuando los niños cumplían 12 años, se detectaban problemas de aprendizaje en lectura, hasta un 16.8% mayor que en los controles. ⁽¹²⁸⁾

Con respecto al midazolam, la bibliografía existente también es concluyente. En un trabajo publicado en el año 2005, miembros de los departamentos de psiquiatría y de anestesiología de dos universidades americanas, Virginia y Pittsburg, administraron dosis subanestésicas de midazolam y midazolam con ketamina a ratas de experimentación. Tras una única exposición, los cerebros de los animales mostraban gran cantidad de actividad neuroapoptótica medida mediante la determinación de la caspasa 3. ⁽¹²⁹⁾ Nuevamente el grupo de la Universidad de Virginia investiga el desequilibrio en las concentraciones del BDNF (brain derived neurotrophic factor) tras una exposición al mismo cocktail de midazolam, isoflurano y óxido nítrico. La actividad neuroapoptótica modulada por el BDNF se localizó preferentemente en el tálamo y en el córtex, mediante la activación de proteasas. ⁽¹³⁰⁾ En el 2013, un grupo internacional con miembros de las universidades de Padua, Belgrado y Virginia, en una población de ratas, de 7 días de edad y que también fueron anestesiadas durante 6 horas con la combinación ya descrita, se observó un aumento de la actividad de la superóxido dismutasa y una elevación de especies reactivas de oxígeno, que originaron alteraciones en la morfogénesis mitocondrial durante este período de gran sinaptogénesis cerebral. ⁽¹³¹⁾ También en el año 2013, en la Universidad de St Louis, los departamentos de

psiquiatría y neurología presentan los resultados de su estudio llevado a cabo en ratones a los que expusieron a cafeína, cafeína y alcohol, o a esta más diazepam. En el grupo de las expuestas a diazepam se produjeron desequilibrios en las funciones de aprendizaje y de memorización.⁽¹³²⁾

Concluyendo esta discusión y aunque el artículo al que haré referencia es del año 2010, un grupo de investigadores en neurociencias psiquiátricas y anestésicas, de la Universidad Siciliana de Mesina, redacta un artículo que, por un lado, recoge la gran carga de evidencia existente en la literatura acerca del daño neuronal, pero se esfuerzan en revisar 600 abstracts, de los cuales tras cumplir unos criterios de calidad quedan en 100. Intentan valorar si podemos emplear una técnica anestésica neuroprotectora y esto se reflejaría en un mejor resultado neurológico. Exploraron gran cantidad de literatura publicada desde 1980 hasta 2010. En un principio les pareció observar que los agentes inhalados, el propofol y los barbitúricos, mostraban un cierto efecto neuroprotector del tejido cerebral en pacientes que padecían situaciones clínicas derivadas de enfermedades neurodegenerativas, problemas vasculares cerebrales o traumatismos craneoencefálicos. Sin embargo otros trabajos en animales hablan en sentido contrario y establecen asociaciones entre la dosis administrada y el tiempo de exposición. En aquel año y creo que sigue siendo una conclusión aceptable, no hay ningún estudio que demuestre la superioridad de un agente sobre otro.⁽¹³³⁾

En éste sentido, mis resultados invitan a minimizar el empleo de múltiples fármacos y a ajustar correctamente las dosis de los que empleemos. Debe existir un conocimiento teórico actualizado de todas aquellas intervenciones que se realicen sobre la población pediátrica. Las guías clínicas y la literatura deben explorarse periódicamente en busca de evidencias

científicas que nos permitan trabajar con responsabilidad y sin alarmismos. En hospitales secundarios en los que no contamos con cirugía pediátrica, ni unidad de cuidados intensivos pediátricos, contar con profesionales especialmente sensibilizados con éstos temas, debe servir para que se asiente un estilo neuroprotector: intentar estar actualizados en las peculiaridades de la anestesia pediátrica, asistir a actividades formativas específicas y difundir éstos conocimientos entre el resto de miembros del servicio deben ser objetivos fundamentales. Cuando esto se cumpla, a modo de mancha de aceite, se iría extendiendo una manera de quehacer en las diferentes áreas quirúrgicas del centro. Las indicaciones de cirugía para pacientes pediátricos deben ser exquisitamente realizadas, basadas en la evidencia existente. Se debería promover desde el servicio de anestesiología la creación de una subcomisión quirúrgica, dependiente de la comisión quirúrgica, donde participen miembros de servicios quirúrgicos e incluso personal del área de dirección y atención a la ciudadanía, con el fin de mantener presente la idea del cuidado del paciente pediátrico.

Por último, y cuestionando todo lo que he expuesto en este trabajo, hemos de reconocer que la anestesia juega un papel protector ante el daño metabólico, inmunológico, frenando la respuesta humoral derivada del estrés y/o del dolor, que pudieran devenir de una profundidad anestésica inadecuada o una analgesia escasa. ⁽¹³⁴⁾

VII. CONCLUSIONES

A tenor de los resultados obtenidos en el presente trabajo y que de forma resumida expresamos mediante los siguientes términos:

1. Todos los pacientes mostraron aumentos de la proteína S 100 B tras la intervención.
2. Existen diferencias estadísticamente significativas entre la proteína S 100 B basal y la proteína S 100 postexposición ($p < 0.0001$).
3. Encontramos correlación directamente proporcional entre la dosis de fentanilo total suministrada y la variable S100 pb.

Y, de la literatura revisada, presentamos las siguientes conclusiones:

1) Por todo lo expuesto hasta ahora, creemos que podemos justificar el uso de la proteína S 100 B como biomarcador de daño neuronal postanestesia en niños.

2) Además, podemos incidir en su relación con las dosis totales de fármacos comúnmente utilizados para la ansiolisis y para el control del dolor.

Afirmaciones que nos abren líneas de trabajos futuros mediante la sustitución del midazolam, en casos seleccionados, por técnicas no farmacológicas de control de la ansiedad, ampliamente utilizadas en medicina. La presencia de los padres en los quirófanos hasta el momento de la pérdida de consciencia, la utilización de canciones o juegos de tableta con los que el niño esté familiarizado, y la visita con antelación a las dependencias del bloque quirúrgico por parte del niño y sus familiares, acompañados por los profesionales que estarán

presentes el día de la intervención son variables dignas de ser estudiadas en pro de reducir la dosis de midazolam empleada. ^(135, 136,137)

La utilización de otros opioides como el remifentanilo y el sulfentanilo también serían líneas de investigación para futuros trabajos. Aunque con gran potencia analgésica, desde el punto de vista farmacocinético tienen características diferentes al fentanilo y deberíamos explorar su impacto en la elevación de la proteína S 100 B, para poder seguir aportando datos de utilidad para el clínico en su práctica diaria. ^(138,139)

Una de las herramientas que han significado un avance en la dosificación de drogas anestésicas, no tanto valorando la dosis por kilogramos, sino valorando el efecto de ellas en la depresión del SNC, mediante la integración de ondas de EEG y de EM, ha sido la monitorización del índice biespectral, popularmente conocido como monitor BIS. ⁽¹⁴⁰⁾ Los anestesiólogos que llevamos incorporándolo a nuestra práctica diaria hemos disminuido hasta en un 50 % los mg/kg/hora de propofol que empleábamos con los esquemas clásicos. También manejamos dosis de remifentanilo más bajas y subimos o bajamos dichas cantidades integrando el valor de BIS (plano anestésico entre 40-60, de un mínimo de 0 y un máximo de 100) con el de la tensión arterial o el de la frecuencia cardíaca. ¿Para cuándo su generalización en la población pediátrica? Dejo abierta la posibilidad de llevar a cabo otros trabajos similares al nuestro pero monitorizando a todos estos pequeños con monitores tipo BIS. ^(141,142)

1. PUNTOS CLAVES:

1.1 **Fomentar** la utilización de monitores de profundidad anestésica

1.2 **Diseñar** un plan de manejo ansiolítico para cada paciente según sus características

1.3 **Revisar** la dosificación indicada para cada fármaco y calcularla con el mayor grado de precisión posible antes de comenzar el acto anestésico

1.4 **Sensibilizar**. En hospitales de segundo nivel, donde no existe la especialidad de cirugía pediátrica, contar dentro del equipo de anesthesiólogos con algunos miembros especialmente sensibilizados en estos temas, para mantener una formación continuada en los mismos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mayor M.C. Antonio Moreno-Guzmán. Breve historia de la anestesia. Rev Sanid Milit [Internet] Mex 2012; 66(4)Jun-Ago:189-194 [citado 17 de enero de 2015]. Disponible desde: www.medigraphic.com/pdfs/sanmil/sm-2012/sm124f.pdf
2. Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española. Madrid. 23 edición.2014 [citado 17 de enero de 2015] Disponible en: <http://dle.rae.es/?w=diccionario>
3. Beleño. Plantas solanáceas. [internet] US;2000. [citado el 17 de enero de 2015]Disponible en: <http://www.mind-surf.net/drogas/beleno.htm>
4. Lancina Martín, A. Historia de la anestesia: anestesia general inhalatoria. [Internet] Santiago de Compostela;2014 [Citado el 17 de enero de 2015] Disponible en: drlancina.blogspot.com/2014/03/la-historia-de-la-anestesia-la.htm
5. Cabacas Hurtado, T. Historia de la jeringa [Internet] Sevilla;2014.[Citado el 25 de enero de 2015]. Disponible en: tomascabacas.com/historia-de-la-jeringa
6. Práctica de anestesiología. En Morgan G. Edward. Anestesiología clínica. Tercera edición. México. Editorial Moderna;2003:1-15
7. Eger E I.II Captación y distribución, en: Miller RD, Anestesia, Barcelona, Doyma, 2ª ed., 1993: 75-92.

8. Chin V, Forman S. Administración de la anestesia general. En Procedimientos en Anestesia del Massachusetts General Hospital. 8ª ed Madrid. Ed Panamericana; 2013:198-207

9. Reyes G, Bocanegra JC, Granados M. Farmacocinética de los anestésicos inhalados. En Manual de Anestesiología Inhalatoria, Bogotá; 2007: 3-20

10. Anestésicos intravenosos. En Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK et al editores. Manual de anestesia clínica 7ª ed. Philadelphia.E Ed Lippicott Williams & Wilkins;2013:257-70

11. Fuertes Olivera, A. Cuesta Marín, N. Anestesia intravenosa. En Anestesiología y Reanimación, una guía práctica. Madrid. Ed Arán;2013:137-44

12. Baticón Escudero, P.M. Soto Mesa, D. García Pelaez, R. Premedicación anestésica. En Anestesiología y Reanimación, una guía práctica .Madrid. Ed Arán;2013:65-72

13. Roewer, N. Thiel,H.Farmacología de la anestesia general. En Atlas de Anestesiología. Barcelona. Ed Masson;2003:70-74

14. Evgenov,O. Dunn,P. Bloqueo neuromuscular. En En Procedimientos en Anestesia del Massachusetts General Hospital. 8ª ed .Madrid. Ed Panamericana; 2013:165-79

15. Hall B, Chantigian R. Pharmacology and pharmacokinetics of intravenous drugs. En *Anesthesia: a comprehensive review*. Missouri. Ed Mosby;2010:59-103

16. Mesa Suárez,P. Rosales Conde,C. Neira Reina, F. Enfoque del estado actual del dolor en niños. En *Guía Rápida de Manejo del dolor en Niños*. Jerez de la Frontera. Ed. Arcos 13; 2015: 15-21

17. Loepke A.W, Soriano S.G. Impact of pediatric surgery and anesthesia on brain development. En *Gregory's Pediatric Anesthesia*,5ª ed. Oxford. Ed. Wiley-Blackwell; 2012:1200--18

18. Chow CH, Van Lieshout RJ, Schmidt LA, Dobson KG, Buckley N. Systematic Review: Audiovisual Interventions for reducing preoperative anxiety in children undergoing elective surgery. *J Pediatr Psychol*. 2015 Oct 17.

19. Delaney D, Bayley EW, Olszewsky P, Gallagher J. Parental satisfaction with pediatric preoperative assessment and education in a presurgical care center.*J Perianesth Nurs*. 2015 Aug;30(4):290-300.

20. He HG, Zhu L, Chan SW, Klainin-Yobas P, Wang W The effectiveness of therapeutic play intervention in reducing perioperative anxiety, negative behaviors, and postoperative pain in children undergoing elective surgery: a systematic review. *Pain Manag Nurs*. 2015 Jun;16(3):425-39

21. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF, Olney JW, Wozniak DF Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci*. 2003 Feb 1;23(3):876-82
22. Soriano SG, Anand KJ. Anesthetics and brain toxicity. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2005 Jun;18(3):293-7.
23. Mellon RD, Simone AF, Rappaport BA. Use of anesthetic agents in neonates and young children. *Anesth Analg*. 2007 Mar;104(3):509-20
24. Nikizad H, Yon JH, Carter LB, Jevtovic-Todorovic V. Early exposure to general anesthesia causes significant neuronal deletion in the developing rat brain. *Ann N.Y. Acad. Sci*. 2007. 1122: 69-82
25. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF, Olney JW, Wozniak DF. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *The Journal of Neuroscience* 2003. 23(3): 876-82.
26. Fernández Alvarez E. Desarrollo psicomotor. En M. Cruz, tratado de pediatría 8ªed. Madrid. Ed. Ergon;2001:1623-1631
27. Robert A. Malformaciones congénitas del sistema nervioso central. En Nelson, tratado de pediatría 16ª ed. Madrid. Ed. McGraw-Hill-Interamericana de España;2000:1964-74

28. Valdivia O, D'Angelo Mendoza E. Desarrollo embriológico del sistema nervioso [Internet]. 2012. [Citado el 30/01/2015] Disponible en: bibmed.ucla.edu/ve/edocs_bmucla/materialdidactico/.../desembriol.pdf
29. García Segura L.M. Ramón y Cajal y la neurociencia del siglo XXI [Internet] Jano 2005 [citada el 30/01/2015] Disponible en: www.jano.es/ficheros/sumarios/1/0/.../1v0n1583a13081799pdf001.pdf
30. Cortés F. Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico [internet] Salamanca; 2009 [Citado 2/2/2015]. Disponible en: <http://dicciomed.eusal.es/palabra/apoptosis>
31. Kerr JFR, Wyllie A H and Currie A R. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. *British Journal of Cancer*. 1972; 26: 239–57
32. Conti AA, Lippi D, Gensini GF. The historical evolution of the concept of apoptosis in rheumatic diseases. *Reumatismo*. 2005 Jan-Mar;57(1):57-61.
33. 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.
34. 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

35. Green CR, Kobus SM, Ji Y, Bennett BM, Reynolds JN, Brien JF. Chronic prenatal ethanol exposure increases apoptosis in the hippocampus of the term fetal guinea pig. *Neurotoxicol Teratol.* 2005 Nov-Dec;27(6):871-81
36. Yon JH, Daniel-Johnson J, Carter LB, Jevtovic-Todorovic V Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways. *Neuroscience.* 2005;135(3):815-27.
37. 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
38. Creeley CE, Olney JW The young: neuroapoptosis induced by anesthetics and what to do about it. *Anesth Analg.* 2010 Feb 1;110(2):442-8.
39. Jevtovic-Todorovic V. Pediatric anesthesia neurotoxicity: an overview of the 2011 SmartTots panel. *Anesth Analg.* 2011 Nov;113(5):965-8
40. 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
41. Davidson AJ Anesthesia and neurotoxicity to the developing brain: the clinical relevance. *Paediatr Anaesth.* 2011 Jul;21(7):716-21

42. Mellon RD, Simone AF, Rappaport BA. Use of anesthetic agents in neonates and young children. *Anesth Analg*. 2007 Mar;104(3):509-20.
43. Mintz CD, Wagner M, Loepke AW. Preclinical research into the effects of anesthetics on the developing brain: promises and pitfalls. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2012 Oct;24(4):362-7
44. 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
45. 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.
46. Li Y, Zeng M, Chen W, Liu C, Wang F, Han X . Dexmedetomidine reduces isoflurane-induced neuroapoptosis partly by preserving PI3K/Akt pathway in the hippocampus of neonatal rats. *PLoS One*. 2014 Apr 17;9(4):e93639
47. Wang WY, Yang R, Hu SF, Wang H, Ma ZW, Lu Y. N-stearoyl-L-tyrosine ameliorates sevoflurane induced neuroapoptosis via MEK/ERK1/2 MAPK signaling pathway in the developing brain. *Neurosci Lett*. 2013 Apr 29;(541):167-72
48. Yang ZJ, Wang YW, Li CL, Ma LQ, Zhao X. Pre-treatment with a Xingnaojing preparation ameliorates sevoflurane-induced neuroapoptosis in the infant rat striatum. *Mol Med Rep*. 2015 Mar;11(3):1615-22

49. Claire E, William A. Isolation of 14–3–2 Protein, Neuron-Specific Enolase, and S100 Protein: Methods for Assay of Messenger RNA Activity. En *Research Methods in Neurochemistry*. Nueva York. Ed. Springer Science; 1981:235-279
50. Pastene de la Fuente J.P. Morfofisiopatología y Citodiagnóstico. Proteínas S-100, no sólo un Ac [internet]. Santiago de Chile, 2010. [Citado el 15/09/2014] Disponible en: www.tecmed.cl/pdf/proteinas_S_100.pdf
51. Arroyo Hernández M. *Valor de la proteína S100β en la población pediátrica. Análisis de su comportamiento en el traumatismo craneal leve*. Departamento de Medicina. Universidad de Oviedo. Programa de doctorado: avances en pediatría 2006-2007.
52. Donato R. Biochemical and physicochemical properties of the solubilized s-100 protein binding activity of synaptosomal particulate fractions. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 1983 Sept 3(3): 239-254
53. Ortiz-Muñoz B, Menéndez-López A, Yayá-Tur R, Arribas-Alpuente L, Maíquez-Richart J, Bordes-Monmeneu M Proteína S100 en tumores del Sistema nervioso central. *Rev Neuro*. 2003;36:1011-1015
54. Egea Guerrero J.J, Murillo Cabezas F, León Carrión J. The clinical utility of the S100B protein during traumatic brain injury management. *Neurology* 2003;60:947–51.
55. Egea-Guerrero J.J, Murillo-Cabezas F, Rodríguez-Rodríguez A, Gordillo-Escobar E, Revuelto-Rey J, Muñoz-Sánchez M.A et al. Modelo experimental de lesión cerebral tipo masa en rata: expresión del daño cerebral mediante enolasa neuronal específica y proteína S100B. *Med Intensiva*. 2014;38:218-25

56. Mori T, Asano T, Town T. Targeting S100B in Cerebral Ischemia and in Alzheimer's Disease. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*. Artículo de revisión. 2010.
57. Van Eldik LJ, Wainwright MS. The Janus face of glial-derived S100B: beneficial and detrimental functions in the brain. *Restor Neurol Neurosci*. 2003;21(3-4):97-108.
58. Augusto Silva, Ana Gutiérrez del Arroyo, Carmen Arias e Iciar Lazaro. Estructura, regulación y funciones del gen supresor de tumores p53. Centro de Investigaciones Biológicas. CSIC. Madrid. V Congreso Virtual Hispanoamericano de anatomía patológica. 2002.
59. H. Rosen; L. Rosengren; J. Herlitz; C. Blomstrand. Increased serum levels of the S-100 protein are associated with hypoxic brain damage after cardiac arrest. *Stroke*. 1998; 29:473-477
60. Bernd W. Böttiger, Stefan Möbes, Rolf Glätzer, Harald Bauer, André Gries, et al Astroglial protein S-100 is an early and sensitive marker of hypoxic brain damage and short-term outcome after cardiac arrest in humans. *Circulation*. 2001;103:2694-2698.
61. Fernando Richard Espiga et al. Utilidad de la determinación de la proteína S-100β en el manejo del traumatismo craneoencefálico leve en un servicio de urgencias hospitalario. *Emergencias: Revista de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias*. 2011.23(1):15-21
62. Aristotelis S. Filippidis, Dimitrios C. papadopoulos, eftychi A Z. Kapsalaki, Kostas N Fountas. Role of the S100B serum biomarker in the treatment of children suffering from mild traumatic brain injury. *Neurosurg Focus* 29 (5):E2, 2010

63. Melissa M. Tavaréz, Shireen M Atabaki, Stephen J. Teach. Acute evaluation of pediatric patients with minor brain injury. *Curr Opin Pediatr* 2012, 24:307–313
64. 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.
65. James N. Tsoporis, Forough Mohammadzadeh, and Thomas G. Parker. Intracellular and extracellular effects of S100B in the cardiovascular response to disease. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* Artículo de revisión. 2010
66. Sanchez-Peña P, Nouet A, Clarençon F. Atorvastatin decreases computed tomography and S100-assessed brain ischemia after subarachnoid aneurysmal hemorrhage: a comparative study. *Crit Care Med.* 2012 Feb;40(2):594-602.
67. Rebecca Senn, Mitchell S.V. Elkin, Joan Montaner, Mirjam Christ-Crain, Mira Katan. Potential role of blood biomarkers in the management of nontraumatic intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis* 2014;38:395–409
68. Bao-di Sun, Hong-mei Liu, Shi-nan Nie. S100B protein in serum is elevated after global cerebral ischemic injury. *World J Emerg Med*, Vol 4, No 3, 2013
69. 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.

70. 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.
71. 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.
72. Régis Osorio Martins¹, Newra Telechea Rotta², Luiz V. Portela³, Diogo O. Souza. S100B protein related neonatal hypoxia. *Arq Neuropsiquiatr* 2006;64(1):24-29
73. J. Uberos. Hipotermia moderada en la encefalopatía hipóxico-isquémica. Perspectivas con los cannabinoides sintéticos *Bol. SPAO* 2012; 6 (1)
74. Bozkus F, Sarikaya S, Kocaturk O, Calik M, Abuhandan M. Evaluation of preoperative and postoperative S-100B levels in children with chronic adenotonsillar hypertrophy: preliminary results. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(10):1549-53
75. Iliana Bersani, Cinzia Auriti, Maria Paola Ronchetti, Giusi Prencipe, Diego Gazzolo, Andrea Dotta. Use of early biomarkers in neonatal brain damage and sepsis: state of the art and future perspectives. *BioMed Research International*, Review Article (ID 253520). Volume 2015

76. Diego Gazzolo et al. High Maternal Blood S100B Concentrations in Pregnancies Complicated by Intrauterine Growth Restriction and Intraventricular Hemorrhage. *Clinical Chemistry* May 2006;52(5): 819-826
77. D. Gazzolo, E. Marinoni, R. Di Iorio, et al., "Measurement of urinary S100B protein concentrations for the early identification of brain damage in asphyxiated full-term infants," *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*. 2003;157 (12):1163–1168.
78. Golej, J., & Trittenwein, G. Early detection of neurologic injury and issues of rehabilitation after pediatric cardiac extracorporeal membrane oxygenation. *Artificial organs*. 1999;23(11):1020-1025.
79. Gazzolo, D., Masetti, P., Meli, M., Gratzfeld, D., & Michetti, F. A. B. R. I. Z. I. O.). Elevated S100B protein as an early indicator of intracranial haemorrhage in infants subjected to extracorporeal membrane oxygenation. *Acta Paediatrica*, 2002;91(2):218-221.
80. B. Ortiz-Muñoz, A. Menéndez-López, R. Yayá-Tur, L. Arribas-Alpuente, J. Maíquez-Richart, M. Bordes-Monmeneu. Proteína S100 en tumores del Sistema nervioso central. *Rev. Neurol* 2003;36(11):1011-1015
81. Bartosik-Psujek H, Psujek M, Jaworski J, Stelmasiak Z. Total tau and S100b proteins in different types of multiple sclerosis and during immunosuppressive treatment with mitoxantrone. *Acta Neurol Scand*. 2011 Apr;123(4):252-6

82. Aleksovska K, Leoncini E, Bonassi S, Cesario A, Boccia S, Frustaci A. Systematic Review and Meta-Analysis of Circulating S100B Blood Levels in Schizophrenia. *PLoS ONE*. 2014;9(9):e106342.
83. Nurgul Yilmaz, Kamil Karaali, Sebahat Ozdem, Mehtap Turkay, Ali Unal, Babur Dora. Elevated S100B and Neuron Specific Enolase Levels in patients with migraine-without aura: evidence for neurodegeneration? *Cell Mol Neurobiol*. 2011; 31:579–585.
84. Leclerc E, Sturchler E, Vetter SW. The S100B/RAGE Axis in Alzheimer's Disease. *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*. 2010(2010):539-81
85. DeFrances CJ, Cullen KA, Kozak LJ. National Hospital Discharge Survey: 2005 annual summary with detailed diagnosis and procedure data. *Vital Health Stat*. 2007;13:1–209
86. Soto Mesa D, Bermejo Álvarez MA, Cosío Carreño F. Controversia sobre Anestesia Pediátrica en un Hospital de Segundo Nivel. *Rev electron AnestesiaR* 2012;4 (12): 224
87. Ecoffey JC, Erber A, Holzki J et al. Recommendations for Paediatric Anaesthesia Services. *Minerva Anesthesiol* 2004;70(11): 24-28
88. Mintz CD, Smith SC, Barrett KMS, Benson DL. Anesthetics interfere with the polarization of developing cortical neurons. *Journal of neurosurgical anesthesiology*. 2012;24(4):368-375.

89. Sun L. Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development. *BJA: British Journal of Anaesthesia*. 2010;105(Suppl 1):i61-i68.
90. Sinner B, Becke K, Engelhard K. General anaesthetics and the developing brain: an overview. *Anaesthesia*. 2014 Sep;69(9):1009-22.
91. Lunardi N, Ori C, Erisir A, Jevtovic-Todorovic V . General anesthesia causes long-lasting disturbances in the ultrastructural properties of developing synapses in young rats. *Neurotox Res*. 2010 Feb;17(2):179-88.
92. Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, Farber NB, Smith DJ, Zhang X. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the neonatal rhesus macaque brain. *Anesthesiology*. 2010 Apr;112(4):834-41.
93. Zhu C, Gao J, Karlsson N, Li Q, Zhang Y, Huang Z, Li H, Kuhn HG, Blomgren K. Isoflurane anesthesia induced persistent, progressive memory impairment, caused a loss of neural stem cells, and reduced neurogenesis in young, but not adult, rodents. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2010 May;30(5):1017-30.
94. Represa A, Ben-Ari Y. Trophic actions of GABA on neuronal development. *Trends Neurosci*. 2005 Jun;28(6):278-83.

95. de Lima AD, Opitz T, Voigt T. Irreversible loss of a subpopulation of cortical interneurons in the absence of glutamatergic network activity. *Eur J Neurosci*. 2004 Jun;19(11):2931-43.
96. 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 Sep;107(3):427-36.
97. Loepke AW, Soriano SG. An assessment of the effects of general anesthetics on developing brain structure and neurocognitive function. *Anesth Analg*. 2008 Jun;106(6):1681-707
98. Sprung J, Flick RP, Wilder RT, Katusic SK, Pike TL, Dingli M. Anesthesia for cesarean delivery and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology*. 2009 Aug;111(2):302-10
99. Wilder RT, Flick RP, Sprung J, Katusic SK, Barbaresi WJ, Mickelson C. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology*. 2009 Apr;110(4):796-804.
100. DiMaggio C, Sun LS, Kakavouli A, Byrne MW, Li G. A retrospective cohort study of the association of anesthesia and hernia repair surgery with behavioral and developmental disorders in young children. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2009 Oct;21(4):286-91

101. 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 Apr;110(4):805-12.
102. Bartels M, Althoff RR, Boomsma DI. Anesthesia and cognitive performance in children: no evidence for a causal relationship. *Twin Res Hum Genet*. 2009 Jun;12(3):246-53.
103. Paule MG, Li M, Allen RR, Liu F, Zou X, Hotchkiss C, Hanig JP. Ketamine anesthesia during the first week of life can cause long-lasting cognitive deficits in rhesus monkeys. *Neurotoxicol Teratol*. 2011 Mar-Apr;33(2):220-30.
104. McCann ME, Schouten AN, Dobija N, Munoz C, Stephenson L, Poussaint TY. Infantile postoperative encephalopathy: perioperative factors as a cause for concern. *Pediatrics*. 2014 Mar;133(3):e751-7.
105. Rhondali O, Juhel S, Mathews S, Cellier Q, Desgranges FP, Mahr A, Impact of sevoflurane anesthesia on brain oxygenation in children younger than 2 years. *Paediatr Anaesth*. 2014 Jul;24(7):734-40
106. L. Sun. Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development. *British Journal of Anaesthesia* 105 (S1): i61–i68 (2010).

107. Wang M, Zhang JH, Applegate RL. Adverse effect of inhalational anesthetics on the developing brain. *Medical Gas Research*. 2014;4:2.
108. Cata JP, Abdelmalak B, Farag E. Neurological biomarkers in the perioperative period. *Br J Anaesth*. 2011 Dec;107(6):844-58.
109. Ye H, Wang L, Yang XK, Fan LP, Wang YG, Guo L. Serum S100B levels may be associated with cerebral infarction: a meta-analysis. *J Neurol Sci* 2015 15;348:81-8.
110. Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, Sandercock P. Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 2009;40:380-9.
111. Shakeri M, Mahdkhah A, Panahi F. S100B Protein as a post-traumatic biomarker for prediction of brain death in association with patient outcomes. *Arch Trauma Res* 2013;2:76-80
112. Laribi S, Kansao J, Borderie D, Collet C, Deschamps P, Ababsa R, et al. S100B blood level measurement to exclude cerebral lesions after minor head injury: the multicenter STIC-S100 French study. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:527-36.
113. Lee JY, Lee CY, Kim HR, Lee CH, Kim HW, Kim JH. A role of serum-based neuronal and glial markers as potential predictors for distinguishing severity and related outcomes in traumatic brain injury. *J Korean Neurosurg Soc* 2015;58:93-100

114. Tomaszewski D. Biomarkers of brain damage and postoperative cognitive. Disorders in Orthopedic Patients: An Update. *Biomed Res Int.* 2015;2015:402959
115. Piazza O, Russo E, Cotena S, Esposito G, Tufano R. Elevated S100B levels do not correlate with the severity of encephalopathy during sepsis. *Br J Anaesth* 2007;99:518-21
116. Chiang LM, Chen WY, Yang YC, Jeng MJ. Elevation of the serum S100 protein concentration as a marker of ischemic brain damage in extreme preterm infants. *J Chin Med Assoc* 2015 Aug 15.
117. Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature). *Biochem Biophys Res Commun* 2004;322:1111-22.
118. Donato R, Riuzzi F, Sorci G. Causes of elevated serum levels of S100B protein in athletes. *Eur J Appl Physiol* 2013;113:819-20.
119. Bresnick AR, Weber DJ, Zimmer DB. S100 proteins in cancer. *Nat Rev Cancer* 2015;15:96-109.
120. Bozkus F, Sarikaya S, Kocaturk O, Calik M, Abuhandan M, Altintas A, et al. Evaluation of preoperative and postoperative S-100B levels in children with chronic adenotonsillar hypertrophy: preliminary results. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014;18:1549-53.

121. Pelinka LE, Szalay L, Jafarmadar M, Schmidhammer R, Redl H, Bahrami S. Circulating S100B is increased after bilateral femur fracture without brain injury in the rat. *Br J Anaesth.* 2003 Oct;91(4):595-7
122. Marquardt G, Setzer M, Szelenyi A, Seifert V, Gerlach R. Prognostic relevance of serial S100b and NSE serum measurements in patients with spinal intradural lesions. *Neurol Res.* 2009 Apr;31(3):265-9.
123. Winnerkvist A, Anderson RE, Hansson LO, Rosengren L, Estrera AE. Multilevel somatosensory evoked potentials and cerebrospinal proteins: indicators of spinal cord injury in thoracoabdominal aortic aneurysm surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2007 Apr;31(4):637-42
124. Anderson RE, Winnerkvist A, Hansson LO, Nilsson O, Rosengren L, Settergren G. Biochemical markers of cerebrospinal ischemia after repair of aneurysms of the descending and thoracoabdominal aorta. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2003 Oct;17(5):598-603
125. Kofke WA, Garman RH, Stiller RL, Rose ME, Garman R. Opioid neurotoxicity: fentanyl dose-response effects in rats. *Anesth Analg.* 1996 Dec;83(6):1298-306.
126. Yesim Cokay Abut, Asli Zengin Turkmen, Ahmet Midi, Burak Eren, Nese Yener, Asiye Nurten Efeitos neurotóxicos de levobupivacaína e fentanil sobre a medula espinhal de ratos. *Brazilian Journal of Anesthesiology*, 2015 Jan-Feb;65(1):27-33

127. Zhang XL, Chen ML, Zhou SL. Fentanyl increases colorectal carcinoma cell apoptosis by inhibition of NF- κ B in a Sirt1-dependent manner. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(22):10015-20.
128. International Anesthesia Research Society. Annual Meeting. Boston, 2012. En *Anesthesia & Analgesia*: May 2012;114 (5): 1-271
129. Young C, Jevtovic-Todorovic V, Qin YQ, Tenkova T, Wang H, Labruyere J, Olney JW. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain. *Br J Pharmacol*. 2005 Sep;146(2):189-97.
130. Lu LX, Yon JH, Carter LB, Jevtovic-Todorovic V. General anesthesia activates BDNF-dependent neuroapoptosis in the developing rat brain. *Apoptosis*. 2006 Sep;11(9):1603-15
131. Boscolo A, Milanovic D, Starr JA, Sanchez V, Oklopic A, Moy L, Ori C C, Erisir A, Jevtovic-Todorovic V. Early exposure to general anesthesia disturbs mitochondrial fission and fusion in the developing rat brain. *Anesthesiology*. 2013 May;118(5):1086-97.
132. Yuede CM, Olney JW, Creeley CE. Developmental neurotoxicity of alcohol and anesthetic drugs is augmented by co-exposure to caffeine. *Brain Sci*. 2013 Jul 30;3(3):1128-52.
133. Schifilliti D, Grasso G, Conti A, Fodale V. Anaesthetic-related neuroprotection: intravenous or inhalational agents? *CNS Drugs*. 2010 Nov;24(11):893-907.

134. Lei SY, Hache M, Loepke AW. Clinical research into anesthetic neurotoxicity: does anesthesia cause neurological abnormalities in humans? *J Neurosurg Anesthesiol.* 2014 Oct;26(4):349-57.
135. Manyande A, Cyna AM, Yip P, Chooi C, Middleton P. Non-pharmacological interventions for assisting the induction of anaesthesia in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Jul 14;7:CD006447. doi: 10.1002/14651858.CD006447. pub3.
136. Kazak Z, Sezer GB, Yilmaz AA, Ates Y. Premedication with oral midazolam with or without parental presence. *Eur J Anaesthesiol.* 2010 Apr;27(4):347-52.
137. Astuto M, Rosano G, Rizzo G, Disma N, Raciti L, Sciuto O. Preoperative parental information and parents' presence at induction of anaesthesia. *Minerva Anesthesiol.* 2006 Jun;72(6):461-5.
138. Song IK, Lee JH, Jung S, Kim JT, Kim HS. Estimation of the plasma effect site equilibration rate constant of sufentanil in children using the time to peak effect of heart rate and blood pressure. *Indian J Pharmacol.* 2015 Jul-Aug;47(4):360-4.
139. Vons KM, Bijker JB, Verwijs EW, Majoor MH, de Graaff JC. Postoperative pain during the first week after adenoidectomy and guillotine adenotonsillectomy in children. *Paediatr Anaesth.* 2014 May;24(5):476-82.
140. Saboya Sánchez S, Martín Vivas A, Silva Obregón J.A., Romera Ortega M.Á. Chamorro Jambrina C, La Torre Marcoa I, Camarero Jorgea E. Monitorización de la sedación profunda. El monitor BIS®. *Enferm Intensiva.* 2009;20(4):159-166

141. Goyal A, Mittal N, Mittal P, Gauba K. Bispectral Index Monitoring: validity and utility in pediatric dentistry. *J Clin Pediatr Dent.* 2014 Summer;38(4):366-9.

142. Orliaguet GA, Benabbes Lambert F, Chazot T, Glasman P, Fischler M, Liu N. Feasibility of closed-loop titration of propofol and remifentanil guided by the bispectral monitor in pediatric and adolescent patients: a prospective randomized study. *Anesthesiology.* 2015 Apr;122(4):759-67.

IX. ANEXOS

1. MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimados señores:

Mi nombre es Pablo Mesa Suárez, DNI 43363607M, médico especialista en Anestesiología. Estoy realizando una investigación acerca de la **SEGURIDAD DE LOS ANESTÉSICOS EN NIÑOS**. Para ello analizare en el laboratorio del hospital unas sustancias de la sangre del niño , de las muestras obtenidas en la analítica preoperatoria y otra de la vía venosa que se coloca en quirófano para llevar a cabo la operación quirúrgica. No implica "pinchar" más veces al niño ni se modifica en absoluto el manejo anestésico del paciente.

Debido a que se trata de población pediátrica os informo de este hecho y os pido vuestra autorización expresa.

Atentamente, Pablo Mesa Suárez

Autorizo, firma del representante
HUPR a _____ de _____ de 201

Una vez explicado el objetivo de mí trabajo y considerando que su hijo/hija cumple los criterios de inclusión definidos se le da la posibilidad de no autorizar/rechazar dicha inclusión por los motivos que usted considere oportuno.

Rechazo, firma del representante
HUPR a _____ de _____ de 201

A continuación se le da a usted la posibilidad de retirar de forma libre y consciente el consentimiento para esta intervención.

Revocación, firma del representante
HUPR a _____ de _____ de 201

2 . DIFUSIÓN

2.1 Comunicaciones en la 60 Reunión Anual de la Asociación Andaluza Extremeña de Anestesiología, Córdoba, 2015

MANEJO DEL FENTANILO INTRAOPERATORIO EN LA CIRUGIA DE HIPERTROFIA AMIGDALINA Y VEGETACIONES ADENOIDEAS EN NIÑOS
Rodríguez Lourdes, Mesa Pablo, Estudillo Jaime, Ramos M^a Victoria, Neira Fernando, Portilla David.
Hospital Universitario de Puerto Real (Cádiz)

NUESTRA EXPERIENCIA EN EL USO DE MIDAZOLAM INTRANASAL EN LA SEDACIÓN PREANESTÉSICA EN NIÑOS. *Cartán Jose Manuel Mesa P, Estudillo J, Ramos Ramos V, Rodríguez L, Neira F, Portilla D*
Hospital Universitario Puerto Real (Cádiz)

2.2 Publicaciones en revistas relacionadas con la materia

En la Revista de la Sociedad Española del Dolor: REFLEXIONES SOBRE LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA POR OPIOIDES EN EL CONTEXTO DE UNA ANESTESIA GENERAL EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA. **Aceptada el 20 de octubre de 2015** y pendiente de publicación.

En Medicina Clínica (Barc) Q2 en JCR 2014 :DAÑO CEREBRAL POSTANESTESIA GENERAL. **Aceptada en el 25 de Enero de 2016**