

Proteção Miocárdica pelo Pré- e Pós-Condicionamento Anestésico*

Myocardial Protection by Pre- and Post-Anesthetic Conditioning

Rubens Campana Pasqualin¹, José Otávio Costa Auler Jr., TSA²

RESUMO

Pasqualin RC, Auler Jr. JOC — Proteção Miocárdica pelo Pré- e Pós-Condicionamento Anestésico.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVO: A isquemia miocárdica perioperatória é um evento comumente observado no período perioperatório podendo aumentar significativamente a morbimortalidade pós-cirúrgica. As propriedades cardioprotetoras dos anestésicos voláteis e dos opióides têm sido estudadas durante algumas décadas e hoje constituem poderosas ferramentas no manuseio de pacientes com doença coronariana isquêmica. O objetivo desta revisão foi fornecer fundamentos da proteção miocárdica por condicionamento.

CONTEÚDO: Serão discutidos os conceitos sobre lesão celular decorrente de isquemia e reperfusão, condicionamento isquêmico (PCI), condicionamento anestésico (PCA), assim como os mecanismos de proteção miocárdica. Estudos recentes em cirurgia cardíaca demonstram que a aplicação de curtos períodos de isquemia, durante a reperfusão, podem reduzir a área de infarto do miocárdio. Os anestésicos voláteis também podem apresentar efeito protetor na reperfusão miocárdica. Independentemente da via de sinalização que leva ao condicionamento, tanto aqueles que envolvem anestésicos quanto o isquêmico, considera-se que os canais de KATP dependentes mitocondriais sejam os mediadores finais de cardioproteção por controlarem o influxo de cálcio na mitocôndria e prevenirem a indução da necrose e apoptose. Apesar do PCI e PCA efetivamente reduzirem a área de infarto do miocárdio e melhorarem a função ventricular pós-operatória, é importante salientar que esses tratamentos devem ser anteriores ao evento isquêmico no sentido de justificar sua aplicabilidade clínica.

CONCLUSÕES: Os fenômenos conhecidos como condicionamento isquêmico e condicionamento anestésico do miocárdio, são bem conhecidos, sendo o mecanismo de proteção similar em ambas as situações, porém nem todos os passos que levam a esta proteção foram completamente esclarecidos. Mais investigações são necessárias, para que as propriedades cardioprotetoras dos agentes anestésicos possam ter aplicabilidade clínica crescente.

Unitermos: ANESTÉSICOS: inalatório, venoso; COMPLICAÇÕES: isquemia do miocárdio; FISIOPATOLOGIA; Cardiovascular: condicionamento isquêmico, reperfusão.

SUMMARY

Pasqualin RC, Auler Jr JOC — Myocardial Protection by Pre- and Post-Anesthetic Conditioning.

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Perioperative myocardial ischemia is commonly observed, and it can increase significantly postoperative morbidity and mortality. The cardioprotective properties of volatile anesthetics and opioids have been studied during several decades and currently constitute powerful tools in the management of patients with ischemic coronaryopathy. The objective of this review was to provide the fundamentals of myocardial protection by preconditioning.

CONTENTS: The concepts of cellular damage secondary to ischemia and reperfusion, ischemic preconditioning (IPC), and anesthetic preconditioning (APC), as well as the mechanisms of myocardial protection, are discussed. Recent studies in cardiac surgery demonstrated that the use of short periods of ischemia during reperfusion can reduce the area of myocardial infarction. Volatile anesthetic can also have a protective effect in myocardial reperfusion. Independently of the signaling pathway that leads to preconditioning, both anesthetic and ischemic, mitochondrial dependent KATP channels are considered the final mediators of cardioprotection by controlling the mitochondrial influx of calcium and, therefore, preventing the induction of necrosis and apoptosis. Although IPC and APC effectively reduce the area of myocardial infarction and improve postoperative ventricular function, it is important to stress that those treatments should be instituted before ischemic events to justify their clinical applicability.

CONCLUSIONS: Phenomena known as myocardial ischemic preconditioning and anesthetic preconditioning are well known, and the mechanism of protection is similar in both situations; however, not every step that leads to this protection has been fully explained. Further studies are necessary to increase the clinical applicability of the cardioprotective properties of anesthetics.

Key Words: ANESTHETICS, inhalational, intravenous; COMPLI-CATIONS: myocardial ischemia; PATHOPHYSIOLOGY, Cardiovascular: ischemic preconditioning, reperfusion.

*Recebido do (Received from) Programa Pós-Graduação – Disciplina de Anestesiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Laboratório de Investigação Médica/Anestesiologia (LIM-8), São Paulo, SP

1. Aluno de Doutorado do Programa de Pós-Graduação da FMUSP
2. Diretor do Serviço de Anestesiologia e UTI Cirúrgica do InCor – Hospital das Clínicas da FMUSP; Professor Titular da Disciplina de Anestesiologia da FMUSP; Coordenador do Programa de Pós-Graduação *Sensu Stricto* – Área de Anestesiologia

Apresentado (Submitted) em 18 de abril de 2007
Aceito (Accepted) para publicação em 19 de junho de 2008

Endereço para correspondência (Correspondence to):
Dr. José Otávio Costa Auler Junior
Serviço de Anestesia InCor HC-FMUSP – 2º andar
Avenida Enéas de Carvalho Aguiar 44 — Cerqueira César
05401-900 São Paulo, SP
E-mail: auler@hcnet.usp.br

© Sociedade Brasileira de Anestesiologia, 2008

INTRODUÇÃO

A isquemia miocárdica perioperatória é um evento comum, podendo aumentar significativamente a morbimortalidade pós-operatória de procedimentos cirúrgicos cardíacos e não-cardíacos. Atualmente é cada vez mais freqüente a anestesia em pacientes com doença cardíaca em função do aumento da expectativa de vida. Entre 18% e 74% dos casos com cardiopatia isquêmica apresentam isquemia miocárdica perioperatória ¹. Já que a isquemia e a reperfusão do miocárdio podem levar a graves complicações, como redução na força contrátil (atordoamento) ², disritmias de reperfusão ³, infarto e necrose de miócitos ⁴, nos últimos anos o estudo de medidas que visam a minimizar a lesão de isquemia e reperfusão (I/R) têm sido alvo de pesquisadores. Alguns protocolos de tratamento estão direcionados para o controle da modulação do índice de oferta e consumo de oxigênio pelo miocárdio como os betabloqueadores, bloqueadores dos canais de cálcio e alfa-2 agonistas. Outros protocolos visam ao controle da isquemia celular ou mitocondrial, embora os benefícios clínicos desses tratamentos ainda não tenham sido demonstrados ⁵.

As propriedades cardioprotetoras dos anestésicos têm sido objeto de estudo desde que Freedman ⁶, em 1985, demonstrou que o enflurano era capaz de prevenir a disfunção ventricular pós-isquêmica em corações isolados de ratos submetidos à isquemia miocárdica global. Schultz e col. ⁷, em 1995, demonstraram que o condicionamento isquêmico (PCI) do miocárdio, fenômeno capaz de reduzir a área de infarto do miocárdio, tem como um de seus mediadores os receptores opióides. Esse mesmo grupo demonstrou, em 1996, que a morfina foi capaz de proteger o coração contra o infarto agudo do miocárdio por mecanismo similar ao PCI ⁸. Esta revisão reuniu os dados mais recentes referentes aos principais mecanismos relacionados com os efeitos protetores sobre o miocárdio.

Lesão Celular Decorrente da Isquemia e Reperfusão

A interrupção ou diminuição do fluxo sanguíneo ao miocárdio implica a limitação da oferta de oxigênio e substratos metabólicos aos cardiomiócitos, provocando alterações funcionais, estruturais e metabólicas no músculo cardíaco. Segue-se, então, o acúmulo de íons e metabólitos mudando-se o metabolismo de aeróbico para anaeróbico. A interrupção do fluxo sanguíneo resulta na rápida depleção das reservas celulares de adenosina trifosfato (ATP) e creatina fosfato (fosfatos de alta energia). Como consequência, a função contrátil e as bombas iônicas ATP dependentes (cálcio ATPase do retículo sarcoplasmático e sarcolema e bomba de Na⁺/K⁺) ficam deprimidas ⁹. O acúmulo dos íons Ca⁺⁺ e Na⁺ no citosol com concomitante perda do íon K⁺ intracelular afeta o potencial de membrana e o gradiente iônico transmembrana. Essas alterações levam a um acúmulo de subprodutos e metabólitos, à acidose celular, ao aumento da carga osmótica e da formação de espécies reativas de

oxigênio (ROS) e finalmente à ativação de enzimas sensíveis ao Ca⁺⁺. A partir desse momento as alterações morfológicas começam a ocorrer. As proteases ativadas, sobretudo pelo súbito aumento da concentração de cálcio e ROS, começam a degradar proteínas miofibrilares do citoesqueleto celular, enquanto as lipases afetam as membranas provocando a sua ruptura e, em consequência, a morte celular ¹⁰. Seria esperada a recuperação da produção de energia por parte dos cardiomiócitos que não sofreram apoptose durante o período isquêmico após o reinício da perfusão. Contudo, a reperfusão gera uma pressão ainda maior sobre a célula cardíaca. O retorno do oxigênio e nutrientes faz com que o Ca⁺⁺ citosólico, já em níveis elevados no período isquêmico, aumente mais ainda durante o início da reperfusão em virtude da entrada adicional desse íon na célula pelos canais de Ca⁺⁺ voltagem-dependentes (*L-type Ca⁺⁺ channel*). Esses canais estão localizados no sarcolema e são regulados pela enzima translocadora Na/Ca e também pela liberação do Ca⁺⁺ pelo retículo sarcoplasmático ^{11,12}. Assim, com a perda do rigoroso controle sobre a coordenação dos mecanismos intracelulares, ocorrem as disritmias de reperfusão, cujo mecanismo está relacionado com as oscilações transitórias do Ca⁺⁺ citosólico e superestimulação do ciclo do ácido tricarboxílico ^{13,14}. Finalmente, em decorrência da sobrecarga de Ca⁺⁺ mitocondrial vai ocorrer explosão na geração de ROS.

Portanto, durante a I/R, os cardiomiócitos são expostos a uma seqüência de eventos deletérios e adaptativos que devem ser divididos em dois componentes: durante a isquemia (lesão de isquemia) e durante a reperfusão (lesão de reperfusão). Dados experimentais indicam que o dano causado pela reperfusão é proporcional ao grau do dano causado pela isquemia. Sendo assim, os protocolos de tratamento que visam a aliviar o componente isquêmico da lesão (adenosina, bloqueadores dos canais de Ca⁺⁺, agonistas dos canais de KATP dependentes) irão indiretamente reduzir o inevitável dano causado pelo componente da reperfusão. Além disso, diferentes áreas do miocárdio podem ser mais ou menos intensamente atingidas, dependendo da duração e do grau de restrição do suprimento sanguíneo. Assim, os cardiomiócitos podem apresentar diferentes estados de danos reversíveis e irreversíveis ¹⁵.

Precondicionamento Isquêmico

Durante a isquemia, os cardiomiócitos reduzem seu esforço contrátil já em alguns segundos com interrupção do mecanismo contrátil nos primeiros minutos. Permanecendo a isquemia por mais de 15 minutos, inicia-se o processo de necrose celular resultando na redução da função contrátil, mesmo que o fluxo sanguíneo seja restabelecido ao miocárdio. Em adição à necrose, o processo de apoptose, ou morte celular programada, segue-se após o início da reperfusão ¹⁶.

Por outro lado, Murry e col. ¹⁷, em 1986, descreveram um fenômeno no qual cães submetidos a quatro períodos de cin-

co minutos de isquemia cardíaca antes de um período de 40 minutos de isquemia apresentavam uma área de infarto menor com relação ao grupo-controle. Esse fenômeno foi denominado preconditionamento isquêmico (PCI). Muitos pesquisadores continuam investigando os mecanismos do PCI, porém alguns passos ainda precisam ser esclarecidos. O estímulo isquêmico causa a liberação de mediadores do estresse a partir do coração, incluindo adenosina, bradicinina, catecolaminas, opióides e ROS¹⁸⁻²⁰. Estes mediadores se ligam a receptores específicos da membrana celular (proteína G), que amplifica o estímulo inicial para a fosfolipase C (PLC). A ativação da PLC leva a formação do trifosfato de inositol (IP₃), que promove a liberação do Ca⁺⁺ do retículo sarcoplasmático e produção do diacilglicerol (DAG). O DAG ativa diferentes isoformas da proteína quinase C (PKC). Além do DAG a PKC pode ser ativada pela G proteína, Ca⁺⁺ intracelular aumentado, óxido nítrico (NO) e ROS. Finalmente, a PKC induz a fosforilação e ativação dos canais de K dependentes de ATP (K_{ATP} dependentes) do sarcolema e da mitocôndria, os prováveis efetores do PCI em função do controle da concentração de Ca⁺⁺ intracelular¹⁵.

É importante salientar que o PCI é um tratamento anterior ao evento isquêmico, enquanto a lesão de I/R ocorre durante e após a isquemia. Cabe também lembrar que o PCI, por si só, não previne a morte de miócitos, mas retarda muito a sua ocorrência durante as primeiras duas a três horas de isquemia sustentada (preconditionamento clássico ou precoce)²¹. Após esse período, a proteção conferida pelo estímulo isquêmico inicial desaparece retornando 12 a 24 horas depois podendo durar até 72 horas, denominado preconditionamento tardio ou segunda janela de proteção²² (Figura 1).

Preconditionamento Anestésico

Três classes de anestésicos incluindo opióides, anestésicos voláteis e hipnóticos do grupo etanol (hidrato de cloral e α -cloralose) apresentaram propriedades como agentes indutores de preconditionamento do tecido cardíaco²³. Do ponto de vista clínico, os opióides e os anestésicos voláteis são aqueles usados com mais frequência, apresentando grande potencial para prevenir ou atenuar eventos isquêmicos perioperatórios no miocárdio²¹.

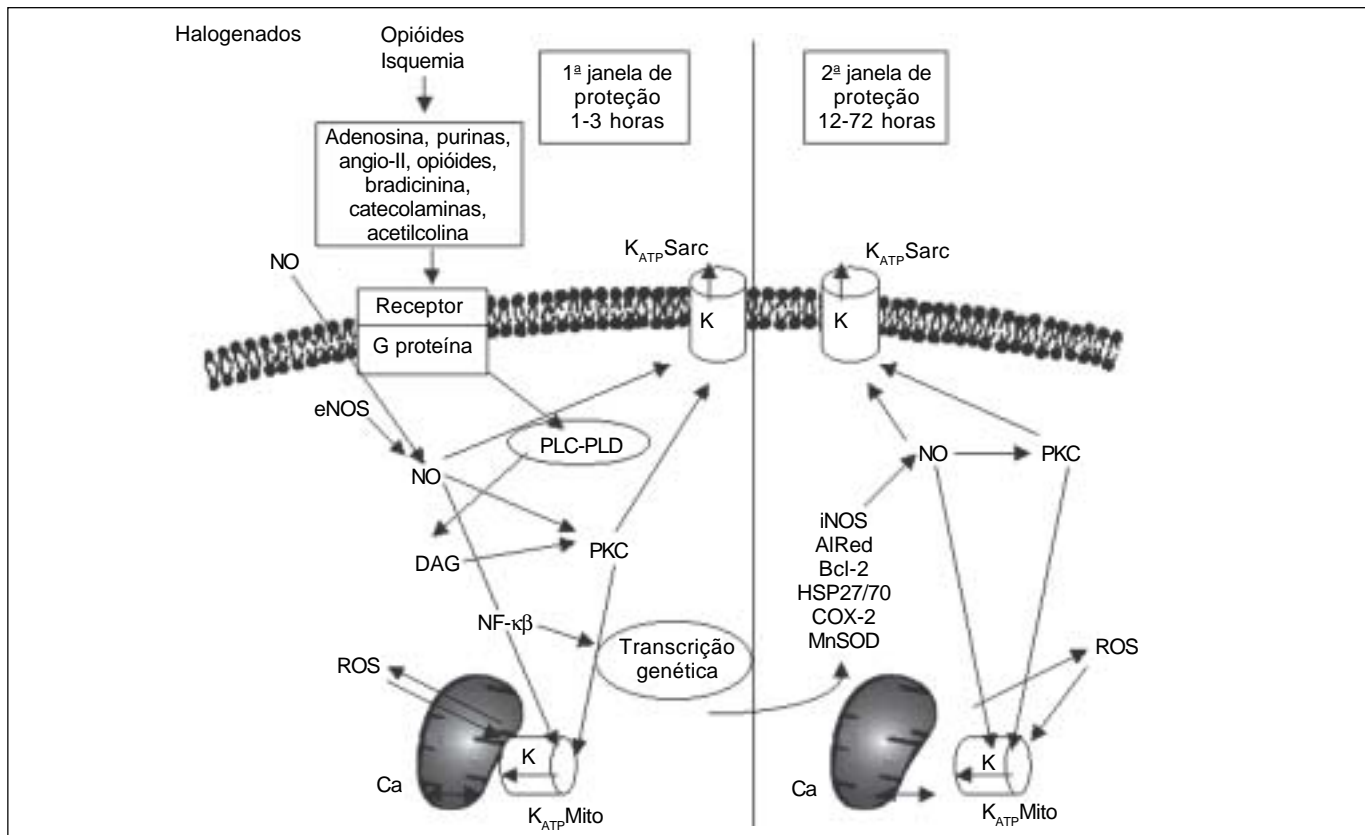


Figura 1 - Cascata de Reações do Preconditionamento Isquêmico (PCI)

À esquerda está esquematizada a primeira janela de proteção e à direita a segunda janela de proteção. ARed = aldose redutase; Bcl-2 = proteína anti-apoptótica; DAG = diacilglicerol; COX-2 = ciclooxigenase tipo 2; eNOS = óxido nítrico sintetase endotelial; G-proteína = proteína que contém receptores na membrana celular; HSP27 e HSP70 = heat shock proteins (proteínas "pró-sobrevivência"); iNOS = óxido nítrico sintetase induzida; K_{ATP} Mito e K_{ATP} SARC = canais de potássio ATP dependentes da mitocôndria e do sarcolema respectivamente; MnSOD = manganês superóxido desmutase; NF κ B = fator nuclear κ B; NO = óxido nítrico; PKC = proteína quinase C; PLC/PLD = fosfolipases C e D; ROS = espécies reativas de oxigênio.

Desde que se demonstrou que os anestésicos voláteis também podem proteger o endotélio e as células da musculatura lisa ²⁴, pelo mecanismo do condicionamento a aplicação desses agentes na proteção orgânica pode ser potencialmente importante. Esse conceito está de acordo com os achados do primeiro estudo duplamente encoberto de condicionamento (SEVO) em pacientes submetidos à revascularização do miocárdio ²⁵. Usando marcadores bioquímicos, esse estudo demonstrou uma melhora pós-operatória significativa nas funções renal e miocárdica nos pacientes que tiveram condicionamento com sevoflurano. PCA e PCI compartilham a maioria dos passos envolvidos no estabelecimento do estado de condicionamento, incluindo a ativação dos receptores ligados à proteína G da membrana ^{26,27}, interação de vários tipos de proteinocinasas ²⁸⁻³⁰, ROS ³¹ e os canais de KATP dependentes do sarcolema e da mitocôndria como efetores finais da cardioproteção pela regulação do íon Ca⁺⁺. Estudos recentes revelaram diferenças no fenótipo cardioprotetor entre PCA e PCI. Uma delas diz respeito à translocação e fosforilação de isoformas da proteinocinase C, assim como ativação distinta de proteinocinasas ativadas por mitose (MAPKs).

Mecanismos de Proteção

Inicialmente, a abertura dos canais de KATP dependentes sarcolemais foi implicada no PCI e no PCA, por meio do encurtamento da duração do potencial de ação ^{32,33}, que assim reduziria a sobrecarga de Ca⁺⁺ intracelular durante a isquemia ³². Porém, estudos posteriores, que levaram à descoberta dos canais de KATP mitocondriais ³⁴, demonstraram que as ações anti-isquêmicas dos canais de KATP ocorriam independentemente da duração do potencial de ação ³⁵⁻³⁷. Contudo, o PCI não ocorreu em camundongos Kir6.2 deficientes (gene que expressa receptores sulfoniluréia e canais retificadores da entrada de K⁺ no complexo molecular dos canais de KATP ³⁸), sugerindo que a presença dos canais de KATP dependentes sarcolemais seriam ainda necessários para ocorrer a cardioproteção ³⁹. Apesar desses últimos dados, a maioria dos resultados indica que a preservação da função bioenergética mitocondrial, que acontece em consequência da abertura dos canais de KATP mitocondriais, parece ser de importância fundamental para promover a proteção contra a isquemia ⁴⁰⁻⁴³. Fármacos que promovem a abertura dos canais de KATP dependentes mitocondriais (por exemplo, diazóxido), mantêm a homeostase do Ca⁺⁺ mitocondrial e inibem a sobrecarga desse íon para o interior da organela ^{42,43}. A alteração do equilíbrio mitocondrial nas reações de oxirredução provocadas pela abertura dos canais de KATP dependentes mitocondriais pode também agir como promotora de proteção celular ^{43,44}. Despolarização da membrana, edema da matriz e inibição da síntese de ATP ocorrem como resultado da abertura dos canais de KATP dependentes mitocondriais, podendo garantir a viabilidade celular durante o PCI ⁴⁴. Com a abertura dos canais KATP dependentes mitocondriais ocorre a despolarização da

membrana mitocondrial interna e edema transitório da matriz ⁴⁵, resultando na troca do balanço iônico ⁴⁶. Esses eventos inicialmente reduzem a produção de ATP ⁴³, mas promovem aumento compensatório na cadeia respiratória que otimiza a eficácia da fosforilação oxidativa em parte pela regulação do volume da matriz mitocondrial ⁴⁷. Portanto, o distúrbio moderado na homeostase mitocondrial causado pela abertura dos canais de KATP dependentes mitocondriais pode proporcionar maior tolerância à lesão isquêmica posterior pela redução da sobrecarga de Ca⁺⁺ ^{42,43}, pela prevenção de reações que resultam em necrose e apoptose ^{48,49} ou atenuação do estresse oxidativo ⁵⁰.

Também foi demonstrado que a síntese mitocondrial de ATP estaria preservada após um período prolongado de I/R, assim como em um período curto de I/R ⁵¹. Esse efeito benéfico foi abolido pelo 5-hidroxicanoato (bloqueador seletivo dos canais de KATP dependentes mitocondriais) sugerindo que a ativação desses canais melhora a produção de energia ⁵². Tem sido objeto de hipótese que a abertura dos canais de KATP dependentes mitocondriais preserve a permeabilidade da membrana mitocondrial externa aos precursores do ATP (adenosina e adenosina difosfato-ADP) e ao citocromo c. A estrutura do espaço intermembrana pode também ser mantida como consequência da ativação dos canais de KATP dependentes mitocondriais mesmo com o edema da matriz ⁴⁰. A preservação dos substratos de ATP e da estrutura mitocondrial pode facilitar uma transferência de energia mais eficiente entre a mitocôndria e o citosol logo após a isquemia. Recentemente, foi demonstrado que o sevoflurano preservou a síntese de ATP em mitocôndrias isoladas de cardiomiócitos obtidos durante os estágios iniciais da reperfusão *in vivo* e esse benefício foi abolido pelo pré-tratamento com varredores de radicais livres ⁵³. O condicionamento induzido pelo sevoflurano melhorou a bioenergética mitocondrial pela ativação dos canais de KATP dependentes mitocondriais em corações isolados de cobaias ⁵⁴. Portanto, pode-se inferir que a abertura dos canais de KATP dependentes mitocondriais pelos anestésicos voláteis pode estar associada à preservação da função mitocondrial durante a reperfusão e, além disso, que a manutenção do desempenho mitocondrial possa também contribuir para a cardioproteção. Pesquisas realizadas em mitocôndrias isoladas demonstraram que a quantidade de ROS que ultrapassa o limite crítico resulta na permeabilidade transitória da membrana interna da mitocôndria com subsequente liberação de grande quantidade de ROS ⁵⁵. Essa permeabilidade transitória da mitocôndria (PTM) precede a morte celular por necrose ou apoptose ⁵⁶ e a glutatona é a defesa primária contra esse evento ^{55,57}. Estes dados sugerem que os anestésicos voláteis e outros agonistas dos canais de KATP dependentes mitocondriais podem prevenir a PTM em um meio sensível à oxidação, mas essa hipótese ainda não foi testada. A abertura dos poros de PTM usando o agonista atracilosida durante a reperfusão aboliu o condicionamento induzido pelo PCI e pelo diazóxido em corações iso-

lados de ratos ⁵⁸. Esses resultados sugerem que a inibição da abertura dos poros de PTM possa representar o último efetor responsável pelo condicionamento, no qual a ativação dos canais de KATP dependentes mitocondriais funcionaria como um mediador ou indutor. Mais recentemente, corações de coelhos tratados com desflurano antes da isquemia e reperfusão exibiram resistência à abertura dos poros de PTM ⁵⁹. Mais pesquisas serão necessárias para delinear a exata função da PTM durante o condicionamento anestésico.

A sobrecarga de Ca^{++} no citosol e na mitocôndria durante prolongada I/R tem sido associada a dano mitocondrial e morte de células miocárdicas ⁶⁰⁻⁶². O condicionamento isquêmico e o induzido pelo sevoflurano reduziram a sobrecarga de Ca^{++} citosólico e melhoraram a recuperação da função contrátil durante a reperfusão ⁶³. A administração de sevoflurano após a isquemia também reduziu o Ca^{++} citosólico e o dano miocárdico ⁶⁴. O PCI e PCA atenuaram a sobrecarga de Ca^{++} durante a isquemia em corações de ratos e cobaias ^{65,66}, efeitos que foram abolidos pelo 5-hidroxi-decanoato. Assim, é possível que a proteção contra a lesão de I/R pelos anestésicos voláteis possa ocorrer, pelo menos em parte, pela atenuação da sobrecarga de Ca^{++} citosólico e mitocondrial por um mecanismo dependente dos canais de KATP dependentes mitocondriais. Os anestésicos voláteis também suprimiram a liberação de Ca^{++} do retículo sarcoplasmático ^{67,68} e deprimiram a sensibilidade miofilar ao Ca^{++} ⁶⁸. Sendo assim, a modulação do retículo sarcoplasmático reduzindo a sobrecarga de Ca^{++} celular e as altera-

ções da sensibilidade miofilar em condições de excesso de Ca^{++} também têm sido consideradas como cardioprotetoras ^{69,70} (Figura 2).

A Importância das Espécies Reativas de Oxigênio (ROS)

Muitas evidências experimentais indicam que as ROS desempenham um papel importante no PCA. Varredores de radicais livres administrados durante o tratamento prévio com isoflurano aboliram os efeitos protetores contra a lesão de I/R ^{71,72}. Um estudo realizado em corações isolados de cobaias utilizou o diidroetídio para observar a geração de ROS por meio de um espectrofotômetro, em que uma sonda de fibra óptica foi colocada contra a parede do ventrículo esquerdo ⁷³. A administração de sevoflurano provocou aumento imediato e reversível na fluorescência do etídio, consistente com a produção de pequenas quantidades de ROS sinalizadores. Os anestésicos voláteis são pequenas moléculas hidrofóbicas que rapidamente atravessam as membranas celulares e deprimem a respiração mitocondrial em alguns complexos da fosforilação oxidativa ⁷⁴. A atenuação da respiração pode causar a perda de elétrons da membrana interna da matriz mitocondrial e aumentar a geração de ROS. Os efeitos dos anestésicos voláteis foram investigados no transporte de elétrons nas partículas submitocondriais ⁷⁵. O isoflurano e o sevoflurano inibiram a atividade da NADH-ubiquinona oxirredutase, sugerindo que o complexo I seria o provável alvo dos anestésicos. Por outro lado, a oxidação do succinato não foi afetada, indicando que esses agentes não afetam os complexos II e IV. Esses resultados

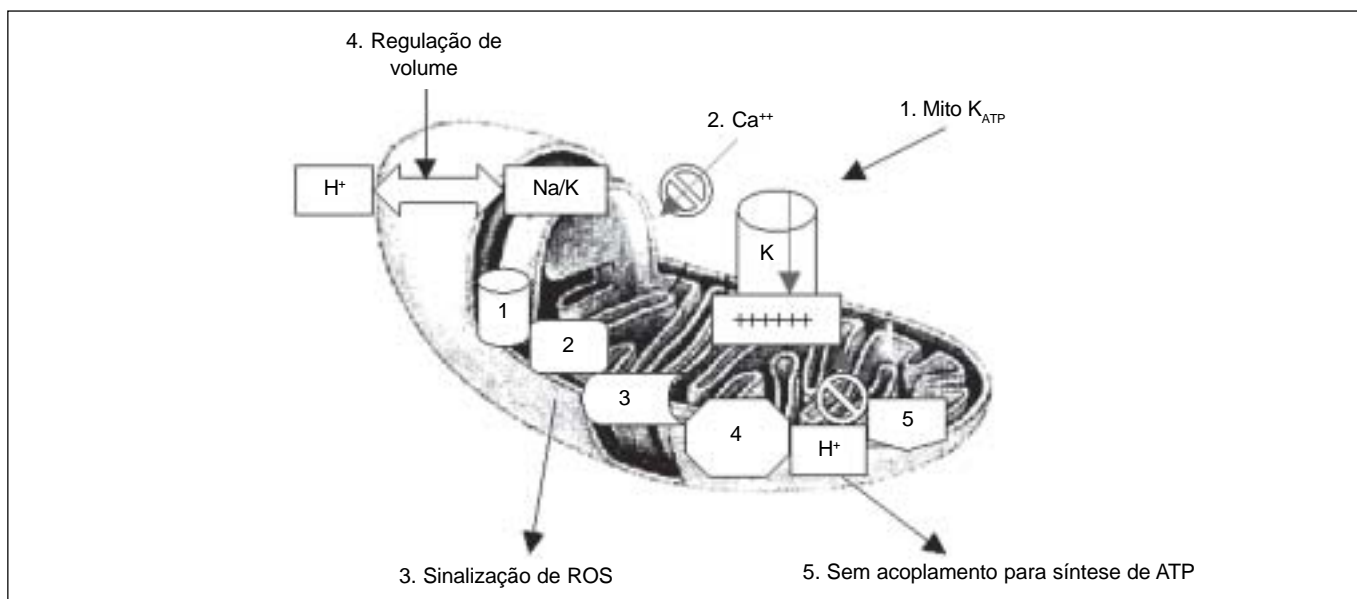


Figura 2 - Preservação Celular durante Lesão de Isquemia e Reperfusão (I/R)

1) despolarização da membrana interna da mitocôndria e edema da matriz ocorrem como consequência da abertura dos canais de KATP dependentes; 2) a despolarização da membrana devido a troca do equilíbrio iônico previne a sobrecarga de cálcio; 3) a descontinuidade inicial da cadeia de transporte de elétrons pode gerar quantidades de ROS sinalizadoras; 4) a dissipação do gradiente de prótons; e 5) o desacoplamento do ATP para a sua síntese maximiza a fosforilação oxidativa e reduz o estresse oxidativo. A abertura dos canais de KATP dependentes também pode reduzir a permeabilidade transitória da membrana mitocondrial e prevenir a apoptose e ou a necrose.

estão de acordo com outro estudo no qual a administração de sevoflurano aumentou a concentração de NADH em corações isolados de cobaias⁷⁶. A atenuação da respiração no complexo I, induzida pelo sevoflurano em mitocôndrias isoladas de cobaias, foi abolida por varredores de radicais livres⁷⁷. Esses últimos dados sugerem que a formação de ROS induzida pelos anestésicos voláteis pode contribuir para um mecanismo de resposta positivo pela atenuação da atividade do complexo I, que contribui ainda mais para a amplificação da sinalização das ROS para iniciar o PCA. O inibidor do complexo III, mixotiazol, mas não o difenileno-dônio, inibidor do complexo I, aboliu a indução do sevoflurano da geração de ROS e tamanho da área de infarto⁷⁸. Esses dados indicam que a geração de ROS a partir da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial é um componente fundamental para a proteção celular durante o PCA. Contrastando com pequenas quantidades de ROS necessárias para iniciar o PCA, grandes quantidades de ROS têm um papel importante na fisiopatologia da lesão de reperfusão. Os anestésicos voláteis também protegem o miocárdio pela atenuação das conseqüências da explosão de ROS durante a reperfusão. Um exemplo seria o efeito protetor do PCA associado a marcante redução na formação de ROS durante a I/R⁷³. A produção aumentada de ROS durante a reperfusão eleva o influxo de Ca⁺⁺ para a mitocôndria, cujo efeito é a abertura dos poros de PTM que resultará na morte celular pela via da apoptose. O desflurano provocou resistência maior à abertura dos poros de PTM induzida pela sobrecarga de Ca⁺⁺ após a I/R⁷⁹. A análise desses dados suporta a hipótese de que a preservação da viabilidade miocárdica durante a reperfusão é decorrente, em parte, da atenuação das conseqüências deletérias das grandes quantidades de ROS formadas nas mitocôndrias.

Pós-Condicionamento: Novas Perspectivas

Embora esteja claro que o PCA proporcione um poderoso meio para reduzir a lesão do miocárdio, a aplicabilidade clínica do PCA pode estar limitada à área da Cirurgia Cardíaca, pois o PC deve ser instituído antes do evento isquêmico, fato difícil de se prever em outras operações. A reperfusão é necessária para a manutenção do miocárdio isquêmico, mas paradoxalmente contribui para a lesão do tecido^{80,81}. Assim, uma intervenção no momento da reperfusão poderia ser mais vantajosa clinicamente pela atenuação da lesão de reperfusão e, portanto, limitando a necrose miocárdica. Recentemente, Vinten-Johansen e col.^{82,83} demonstraram que curtos períodos de isquemia ocorrendo durante os minutos iniciais da reperfusão, após prolongada oclusão arterial, reduziram o tamanho da área de infarto, diminuíram a disfunção endotelial, atenuaram o acúmulo de neutrófilos e inibiram parcialmente a geração de grandes quantidades de ROS. Também se demonstrou que o pós-condicionamento isquêmico foi mediado pela ativação de ERK1/2 (proteínocinase reguladora extracelular) e PI3K-Akt (fosfatidilinositol-3-quinase) além de produção de óxido nítrico⁸⁴.

Os anestésicos voláteis exercem efeitos protetores contra a lesão isquêmica quando administrados por curtos períodos durante a reperfusão. O halotano protegeu o miocárdio contra a hipercontratura induzida pela reoxigenação por meio da prevenção das oscilações do Ca⁺⁺ intracelular durante a fase inicial da reperfusão⁸⁵. A administração de anestésicos voláteis em corações isolados durante os primeiros 15 minutos de reperfusão protegeu o miocárdio contra a lesão de reperfusão⁸⁶. O sevoflurano e o desflurano, mas não o isoflurano, reduziram o tamanho da área de infarto quando administrados nos primeiros 15 minutos de reperfusão em coelhos⁸⁷. O efeito protetor dose-dependente do sevoflurano foi confirmado posteriormente em corações de ratos *in vivo*⁸⁸. Mais recentemente foi demonstrado que o isoflurano reduziu a área de infarto quando administrado três minutos antes e dois minutos após o início da reperfusão⁸⁹. Um inibidor seletivo de PI3K aboliu o efeito protetor da curta exposição do isoflurano durante o início da reperfusão, indicando que essa proteína participa do pós-condicionamento anestésico. A ativação de PI3K contribui para o recrutamento de vários mecanismos endógenos de sinalização e caminhos para reduzir a lesão de reperfusão. Fosforilação de Akt (cinase pró-sobrevivência), estimulação de óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) e ativação da PKC foram demonstradas como mecanismos protetores de PI3K, assim como de outros fármacos, como a insulina⁹⁰, a bradicinina⁹¹ e opióides⁹² durante a reperfusão. Esses dados sugerem que o pós-condicionamento anestésico aparenta ser mediado pela cascata e sinalização de PI3K. O isoflurano e o sevoflurano também reduziram a lesão de reperfusão pela diminuição da adesão de leucócitos polimorfonucleares pós-isquêmica, que sabidamente são mediadores importantes da lesão pós-isquêmica e representam importante fonte de ROS^{93,94}. Até o momento, a modulação do índice de oferta e consumo de oxigênio pelo miocárdio contribui para o efeito protetor dos anestésicos voláteis durante os estágios iniciais da reperfusão. O papel das enzimas PI3K/Akt no preconditionamento ainda deve ser estabelecido para diferenciar os mecanismos envolvidos no pré- e pós-condicionamento.

CONCLUSÕES

As últimas décadas acumularam um grande número de evidências sobre os efeitos cardioprotetores que os anestésicos exercem quando administrados antes da isquemia miocárdica ou nas fases iniciais da reperfusão. O pré- e o pós-condicionamento anestésico são fenômenos que podem se tornar poderosas ferramentas no manuseio de pacientes com doença coronariana isquêmica, submetidos à intervenção cirúrgica cardíaca e não-cardíaca. Os eventos sinalizadores que ocorrem no PCA estão presentes não só nos cardiomiócitos, mas em outros tipos de células. Sendo assim, os anestésicos podem reduzir a lesão em outros órgãos, fenômeno denominado preconditionamento remoto. Muitos eventos que ocorrem no PCA já foram identifica-

dos, porém mais investigações são necessárias para demonstrar sua importância, tempo de ativação e interconexões.

Myocardial Protection by Pre- and Post-Anesthetic Conditioning

Rubens Campana Pasqualin, M.D.; José Otávio Costa Auler Jr., TSA, M.D.

INTRODUCTION

Perioperative myocardial ischemia is a common occurrence, and it can increase significantly postoperative morbidity and mortality in cardiac and non-cardiac surgeries. Nowadays, anesthesia in patients with cardiac disease is increasingly more frequent due to the increase in life expectancy. Between 18% and 74% of the cases of ischemic cardiomyopathy develop perioperative myocardial ischemia¹. Since myocardial ischemia and reperfusion can lead to serious complications, such as reduction in contractile force (stunning)², reperfusion arrhythmias³, and infarction and necrosis of myocytes⁴, in the last several years many researchers have studied measures to minimize ischemic and reperfusion damage (I/R). Some treatment protocols are aimed at controlling the modulation of myocardial oxygen supply and demand indices like beta-blockers, calcium channel blockers, and alpha-2-agonists. Other protocols are aimed at controlling cellular or mitochondrial ischemia, although the clinical benefits of those treatments have yet to be demonstrated⁵.

The cardioprotective properties of anesthetics have been studied since Freedman⁶ demonstrated, in 1985, that enflurane was capable of preventing post-ischemic ventricular dysfunction in isolated mice hearts submitted to global myocardial ischemia. In 1995, Schultz et al.⁷ demonstrated that opioid receptors are one of the mediators of ischemic preconditioning (IPC) of the myocardium, which can reduce the area of myocardial infarction. This same group demonstrated, in 1996, that morphine was capable of protecting the heart against acute myocardial infarction through mechanisms similar to ICP⁸. This review gathered the most recent data regarding the main mechanisms related with myocardial protection.

Cell Damage Secondary to Ischemia and Reperfusion

The interruption or decrease in blood flow to the myocardium reduces the delivery of oxygen and metabolic substrates to the myocytes, causing functional, structural, and metabolic changes in the cardiac muscle. This is followed by an accumulation of ions and metabolites, changing the metabolism from aerobic to anaerobic. The interruption in blood flow results in fast depletion of the cellular reserves of adenosine

triphosphate (ATP) and creatine phosphate (high-energy phosphates). As a consequence, contractility and ATP-dependent ion pumps (calcium ATPase, in the sarcoplasmic reticulum and sarcolemma, and Na⁺/K⁺ pump) are depressed⁹. The accumulation of Ca⁺⁺ and Na⁺ in the cytosol, along with the loss of intracellular K⁺, affects the membrane potential and the transmembrane ion gradient. Those changes lead to the accumulation of byproducts and metabolites, cellular acidosis, increase in osmotic load, and formation of reactive oxygen species (ROS) and finally to the activation of Ca⁺⁺-sensitive enzymes. From this moment on, morphologic changes start to develop. Proteases activated especially by the sudden increase in calcium and ROS concentration start to degrade myofibrillar proteins of the cytoskeleton while lipases affect membranes causing their rupture and consequent cellular death¹⁸.

Recovery of the production of energy by cardiomyocytes that did not undergo apoptosis during the ischemic period would be expected after perfusion is reinstated. However, reperfusion generates greater pressure on the cardiac cell. The return of oxygen and nutrients increases the already elevated cytosolic Ca⁺⁺ levels due to the entry of additional calcium through voltage-dependent Ca⁺⁺ channels (L-type Ca⁺⁺ channel). Those channels are located in the sarcolemma and they are regulated by the Na/Ca exchange protein and also by the release of Ca⁺⁺ from the sarcoplasmic reticulum^{11,12}. Therefore, the loss of the rigid control on coordination of intracellular mechanisms lead to the development of reperfusion arrhythmias, whose mechanism is related with the transient oscillation of cytosolic Ca⁺⁺ and hyperstimulation of the tricarboxylic acid cycle^{13,14}. Finally, due to the mitochondrial overload of Ca⁺⁺, the generation of ROS increases dramatically.

Therefore, during I/R, cardiomyocytes are exposed to a sequence of harmful and adaptive events that should be divided in two components: during ischemia (ischemic damage) and during reperfusion (reperfusion damage). Experimental data indicate that the damage caused by reperfusion is proportional to the degree of damage caused by ischemia. Therefore, treatment protocols that are aimed at alleviating the ischemic component of damage (adenosine, Ca⁺⁺ channel blockers, and agonists of KATP-dependent channels) will reduce, indirectly, the unavoidable damage caused by reperfusion. Besides, different areas of the myocardium can be more or less severely affected, depending on the duration and degree of blood flow restriction. Thus, cardiomyocytes can present different states of reversible and irreversible damages¹⁵.

Ischemic Preconditioning

During ischemia, the contractile effort of cardiomyocytes is decreased within a few seconds, with interruption of the contractile mechanisms in the first minutes. If ischemia lasts more than 15 minutes, cellular necrosis begins, resulting in reduction of the contractile function even if the blood flow to

the myocardium is restored. In addition to necrosis, apoptosis, or programmed cell death, occurs after the beginning of reperfusion ¹⁶.

On the other hand, in 1986 Murray et al. ¹⁷ described a phenomenon in which dogs submitted to four 5-minute periods of cardiac ischemia before and after a period of 40 minutes of ischemia developed a smaller area of infarction when compared with the control group. This phenomenon was called ischemic preconditioning (IPC). Several researchers continue investigating the mechanisms of IPC; however a few steps still need to be explained.

The ischemic stimulus causes the release of stress mediators from the heart, including adenosine, bradykinin, catecholamines, opioids, and ROS ¹⁸⁻²⁰. Those mediators bind to specific receptors in the cell membrane (protein G), which amplifies the initial stimulus for phospholipase C (PLC). Activation of PLC leads to the formation of inositol triphosphate (IP3), which promotes the release of Ca⁺⁺ from the sarcoplasmic reticulum, and production of diacylglycerol (DAG). Diacylglycerol activates different isoforms of protein kinase C (PKC). Besides DAG, PKC can be activated by

protein G, increased intracellular levels of Ca⁺⁺, nitric oxide (NO), and ROS can also activate PKC. Finally, PKC induces the phosphorylation and activation of ATP-dependent potassium channels (KATP dependent) in the sarcolemma and mitochondria, the most likely effectors of ICP due to the control of the intracellular concentration of Ca⁺⁺ ¹⁵.

Note that ICP is a treatment that should be instituted before the ischemic event, while the I/R lesion occurs after ischemia. It also should be mentioned that ICP alone does not prevent the death of myocytes but delays significantly its occurrence during the first two to three hours of sustained ischemia (classical or early preconditioning) ²¹. After this period, the protection provided by the initial ischemic stimulus disappears, returning after 12 to 24 hours, and it can last up to 72 hours, which is known as late preconditioning or second window of protection ²² (Figure 1).

Anesthetic Preconditioning

Three classes of anesthetics including opioids, volatile anesthetics, and ethanol hypnotics (chloral hydrate and α -chloralose) have properties of cardiac preconditioning ²³.

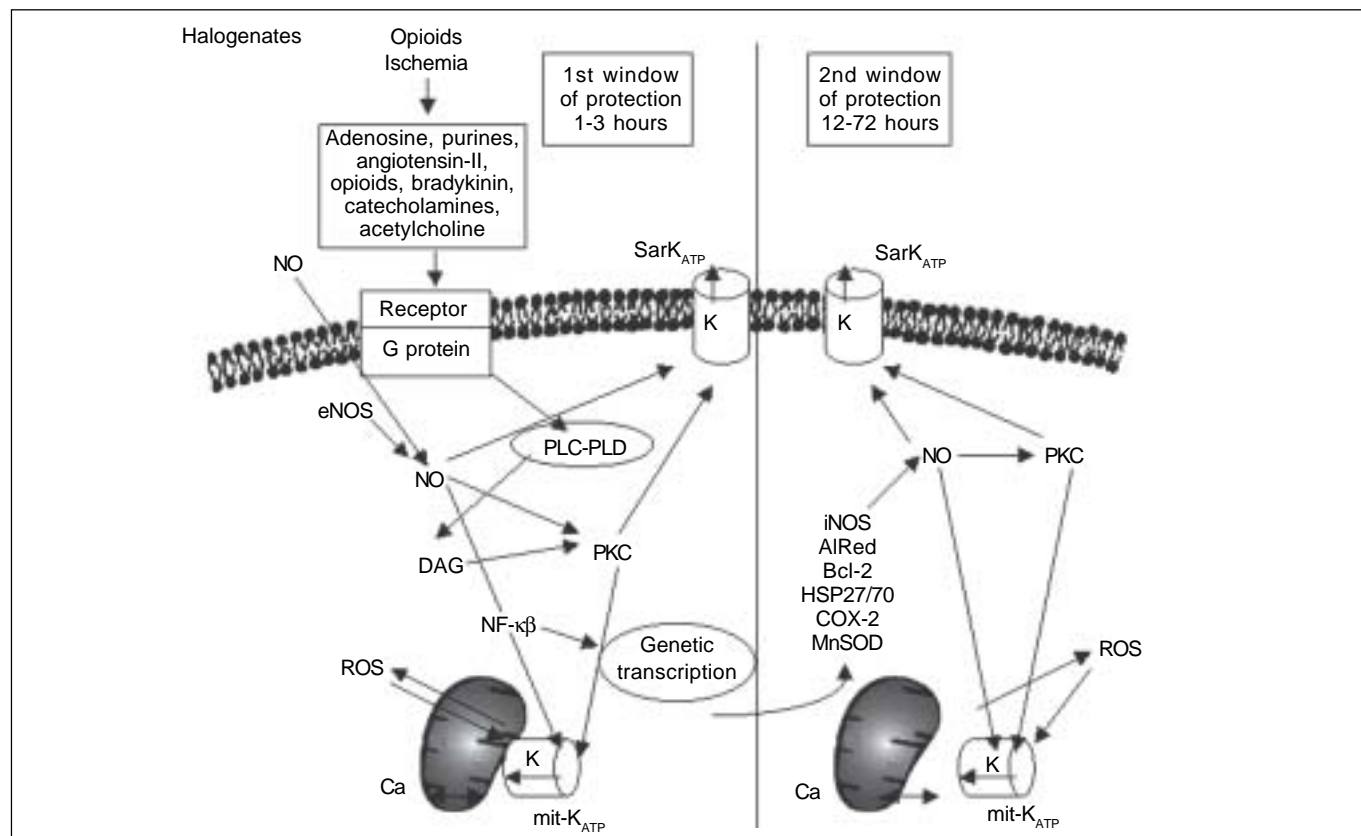


Figure 1 – Ischemic Preconditioning Cascade (IPC)

The first window of protection is shown on the left and the second window of protection on the right. AIRed = aldolase reductase; Bcl-2 = anti-apoptotic protein; DAG = diacylglycerol; COX-2 = cyclooxygenase 2; endothelial nitric oxide synthase; G-protein = protein that contains cell membrane receptors; HSP27 and HSP70 = heat shock proteins; iNos = inducible nitric oxide synthase; KATP Mito and KATP SARC = ATP-dependent potassium channels in the mitochondria and sarcolemma, respectively; MnSOD = manganese superoxide dismutase; NFκβ = nuclear factor κβ; NO = nitric oxide; PKC = protein kinase C; PLC/PLD = phospholipases C and D; ROS = reactive oxygen species.

Clinically, opioids and volatile anesthetics are used more often, presenting a great potential to prevent or attenuate perioperative myocardial ischemic events²¹.

Since it was demonstrated that volatile anesthetics can also protect the endothelium and smooth muscle cells²⁴ by preconditioning, the use of those agents in organic protection can be potentially important. This concept is in agreement with the findings of the first double-blind study on preconditioning (SEVO) in patients undergoing myocardial revascularization²⁵. Using biochemical markers, this study demonstrated significant postoperative improvement in renal and cardiac function in patients undergoing preconditioning with sevoflurane.

Anesthetic preconditioning and IPC share most of the steps involved in establishing the state of preconditioning, including the activation of protein G binding receptors in the cell membrane^{26,27}, interaction of several types of protein kinases²⁸⁻³⁰, ROS³¹, and KATP dependent channels in the sarcolemma and mitochondria, as final effectors of cardioprotection by regulating the ion Ca⁺⁺. Recent studies demonstrated differences in the cardioprotective phenotype between ACP and ICP. One of them is related with the translocation and phosphorylation of protein kinase C isoforms, as well as the distinct activation of mitosis-activated protein kinases (MAPKs).

Protective Mechanisms

Initially, opening of KATP-dependent sarcolemmal channels were implicated in IPC and APC, by shortening the duration of the action potential^{32,33}, and, therefore, reducing the intracellular overload of Ca⁺⁺ during ischemia³². However, further studies that led to the discovery of KATP mitochondrial channels³⁴, demonstrated that the anti-ischemic actions of KATP channels were independent of the duration of the action potential³⁵⁻³⁷. However, ICP did not occur in Kir6.2-deficient mice (gene that expresses sulphonylurea receptors and K⁺-entry rectifying channels in the molecular complex of KATP channels³⁸ suggesting that the presence of sarcolemmal KATP-dependent channels would still be necessary for cardioprotection³⁹. Despite these last data most results indicate that the preservation of mitochondrial bioenergetic function, which is a consequence of the opening of mitochondrial KATP channels, seems to be fundamentally important to promote protection against ischemia⁴⁰⁻⁴³. Drugs that promote the opening of KATP-dependent mitochondrial channels (e.g., diazoxide) maintain mitochondrial Ca⁺⁺ homeostasis and inhibit the overload of this ion inside the organelle^{42,43}. The change in mitochondrial balance in oxy-reduction reactions caused by opening of mitochondrial KATP-dependent channels can also promote cellular protection^{43,44}. Membrane depolarization, matrix edema, and inhibition of ATP synthesis occur as a result of the opening of mitochondrial KATP-dependent channels, guaranteeing cellular viability during IPC⁴⁴. The opening of mitochondrial KATP-dependent channels causes depolarization of the internal mitochondrial membrane and transitory matrix edema⁴⁵, resulting in the

change in ion balance⁴⁶. These events initially reduce the production of ATP⁴³, but they promote a compensatory increase in respiratory chain that optimizes the efficacy of oxidative phosphorylation, partly by regulating the volume of the mitochondrial matrix⁴⁷. Thus, moderate disruption in mitochondrial homeostasis caused by the opening of KATP-dependent mitochondrial channels can provide more tolerance to the ischemic lesion due to the reduction in Ca⁺⁺ overload^{42,43}, prevention of reactions that result in necrosis and apoptosis^{48,49}, or attenuation of the oxidative stress⁵⁰. It has also been demonstrated that the mitochondrial synthesis of ATP would be preserved after a prolonged period of I/R, as well as after a short period of I/R⁵¹. This beneficial effect was abolished by 5-hydroxidecanoate (a selective blocker of mitochondrial KATP-dependent channels), suggesting that the activation of those channels improves energy production⁵². It has been hypothesized that the opening of mitochondrial KATP-dependent channels preserves the permeability of the external mitochondrial membrane to ATP precursors (adenosine and adenosine diphosphate-ADP) and cytochrome c. The structure of the intermembrane space can also be preserved as a consequence of the activation of mitochondrial KATP-dependent channels, even in the presence of matrix edema⁴⁰. The preservation of ATP substrates and mitochondrial structure can facilitate more efficient energy transfer between the mitochondria and the cytosol immediately after ischemia. It has been demonstrated recently that sevoflurane preserved ATP synthesis in mitochondria isolated from cardiomyocytes obtained during the initial stages of reperfusion *in vivo*, and this benefit was abolished by the pre-treatment with free radical scavengers⁵³. Preconditioning induced by sevoflurane improved mitochondrial bioenergetics by activating mitochondrial KATP-dependent channels in isolated guinea-pig hearts⁵⁴. Thus, one can infer that the opening of KATP-dependent channels by volatile anesthetics can be associated with the preservation of mitochondrial function during reperfusion, and the preservation of mitochondrial performance can also contribute for cardioprotection. Studies in isolated mitochondria demonstrated that the amount of ROS that overshoots the critical threshold results in transient permeability of the internal mitochondrial membrane and the subsequent release of large amounts of ROS⁵⁵. This transitory mitochondrial permeability (TMP) precedes cell death by necrosis or apoptosis⁵⁶ and glutathione is the primary defense against this event^{55,57}. Those data suggest that volatile anesthetics and other mitochondrial KATP-dependent channels can prevent TMP in an oxidative-sensitive medium, but this hypothesis has not been tested yet. Opening of TMP by the agonist atractyloside during reperfusion abolished the preconditioning induced by ICP and diazoxide in isolated mice hearts⁵⁸. Those results suggest that inhibition of the opening of TPM pores may represent the last effector responsible for the preconditioning, where the activation of mitochondrial KATP-dependent channels would work as a mediator or inductor. More recently,

rabbit hearts treated with desflurane before ischemia and reperfusion, showed resistance to the opening of TMP pores⁵⁹. Further studies are needed to delineate the exact role of TMP during anesthetic preconditioning.

The cytosolic and mitochondrial Ca⁺⁺ overload during prolonged I/R has been associated with mitochondrial damage and the death of myocytes⁶⁰⁻⁶². Ischemic preconditioning and sevoflurane-induced preconditioning reduced the cytosolic Ca⁺⁺ overload and myocardial damage⁶⁴ and improved the recovery of the contractile strength during reperfusion⁶³. Ischemic preconditioning and APC attenuated the Ca⁺⁺ overload during ischemia in mice and guinea pigs hearts^{65,66}, effects that were abolished by 5-hydroxidecanoate. Thus, it is possible that the protection against I/R-induced damage by volatile anesthetics can be partly due to the attenuation of cytosolic and mitochondrial Ca⁺⁺ overload through a mechanism dependent of mitochondrial K_{ATP}-dependent channels. Volatile anesthetics also suppressed the release of Ca⁺⁺ from the sarcoplasmic reticulum^{67,68} and the sensitivity of the monofilament to Ca⁺⁺⁶⁸. Therefore, the modulation of the sarcoplasmic reticulum reduces cellular Ca⁺⁺ overload and the changes in the sensitivity of the monofilaments under conditions of Ca⁺⁺ excess have also been considered as cardioprotective^{69,70}.

The Importance of Reactive Oxygen Species (ROS)

Several experimental evidences indicate that ROS play an important role in APC. Free radicals scavengers administered during treatment with isoflurane abolished the protective

effects against the I/R damage^{71,72}. A study of isoflurane in isolated guinea pigs hearts used dihydroethidium to observe the generation of ROS through a spectrophotometer, in which a fiberoptic probe was placed against the wall of the left ventricle⁷³. The administration of isoflurane caused an immediate and reversible increase in ethidium bromide fluorescence, which is consistent with the production of small amounts of signaling ROS. Volatile anesthetics are small hydrophobic molecules that readily cross cell membranes, causing depression of mitochondrial respiration in some oxidative phosphorylation complexes⁷⁴. Attenuation of respiration can cause the loss of electrons in the internal membrane of the mitochondrial matrix and increase the generation of ROS. The effects of volatile anesthetics on electron transport in submitochondrial particles were investigated⁷⁵. Isoflurane and sevoflurane inhibited the activity of the NADH-ubiquinone oxidoreductase, suggesting that complex I would be the probable target of anesthetics. On the other hand, oxidation of succinate was not affected, indicating that those agents do not affect complexes II and IV. Those results are in agreement with another study in which the administration of sevoflurane increased the concentration of NADH in isolated guinea pigs hearts⁷⁶. The attenuation of respiration in complex I induced by sevoflurane in isolated mitochondria of guinea pigs was abolished by free radicals scavengers⁷⁷. The last data suggest that formation of ROS induced by volatile anesthetics can contribute for the mechanism of positive response by attenuating the activity of complex I, contributing even more for the amplification and signaling of ROS to initiate APC.

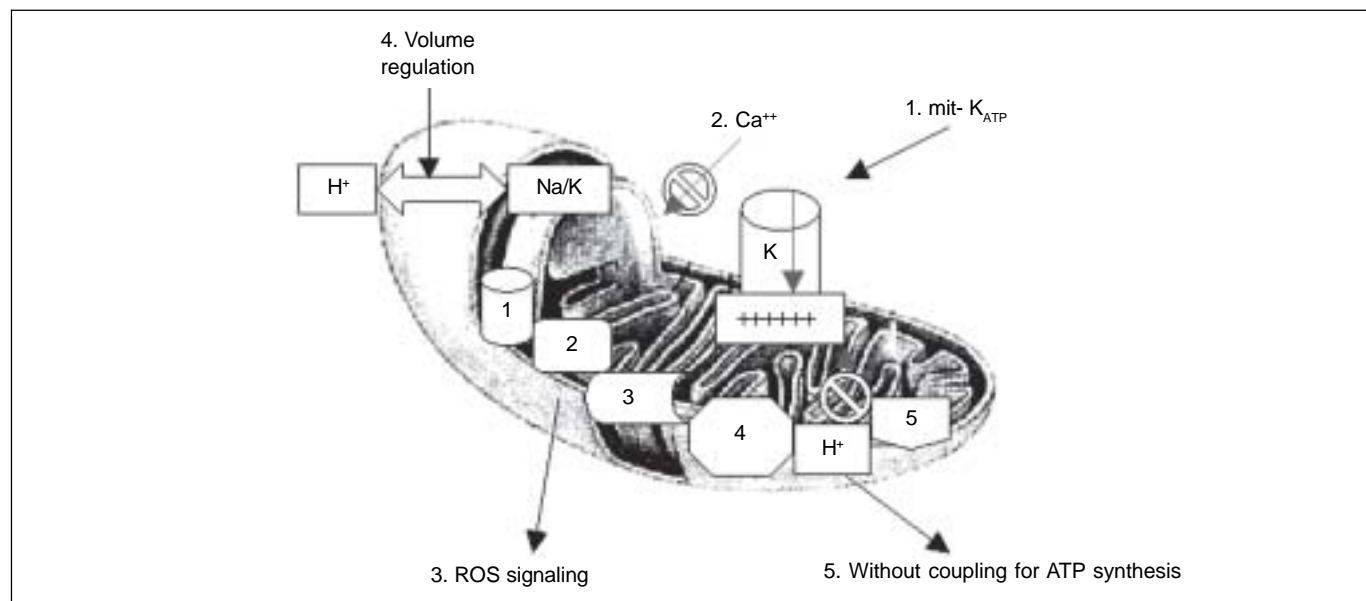


Figure 2 – Cellular Preservation During Ischemic and Reperfusion (I/R) Damage

- 1) depolarization of the internal mitochondrial membrane and edema of the matrix are secondary to the opening of K_{ATP}-dependent channels;
- 2) membrane depolarization caused by a change in ionic balance prevents calcium overload;
- 3) the initial discontinuity of the electron transport chain can generate signaling ROS;
- 4) proton gradient dissipation;
- 5) uncoupling of ATP for its synthesis maximizes oxidative phosphorylation and reduces the oxidative stress. Opening of K_{ATP}-dependent channels can also reduce the transient permeability of the mitochondrial membrane and prevent apoptosis and/or necrosis.

Mixothiazol, a complex III inhibitor, abolished the generation of ROS by sevoflurane and the size of the infarct area, which did not happen with diphenyleidonium, a complex I inhibitor⁷⁸. This indicates that the generation of ROS by the mitochondrial electron transport chain is a fundamental component of cellular protection during APC.

In contrast with the small amounts of ROS necessary to initiate APC, large amounts of ROS have an important role on the pathophysiology of reperfusion damage. Volatile anesthetics also protect the myocardium by attenuating the consequences of ROS burst during reperfusion. The protective effect of APC associated with a markedly reduction in the formation of ROS during I/R is an example⁷³. The increased production of ROS during reperfusion increases the influx of Ca⁺⁺ into the mitochondria, opening TMP pores, resulting in cell death by apoptosis. Desflurane increased the resistance to the opening of those pores induced by the overload of Ca⁺⁺ after I/R⁷⁹. Analysis of those data supports the hypothesis that the preservation of myocardial availability during reperfusion is partly due to the attenuation of the serious consequences of large amounts of ROS produced in the mitochondria.

Post-Conditioning: New Perspectives

Although it is clear that APC provides a powerful means of reducing myocardial damage, the clinical applicability of APC might be limited to Cardiac Surgeries because preconditioning should be instituted before the ischemic event, which is difficult to predict in other types of surgeries. Reperfusion is necessary for maintenance of the ischemic myocardium, but paradoxically it contributes for the lesion^{80,81}. Thus, one intervention at the time of reperfusion could be more clinically advantageous by attenuating the reperfusion damage and, therefore, inhibiting myocardial necrosis. Recently, Vinten-Johansen et al.^{2,83} demonstrated that short periods of ischemia during the early minutes of reperfusion after prolonged arterial occlusion reduced the size of the infarct, endothelial dysfunction, accumulation of neutrophils, and inhibited partially the generation of large amounts of ROS. It has also been demonstrated that post-ischemic conditioning was mediated by the activation of ERK1/2 (extracellular signal regulated kinase) and P13K-Akt (phosphatidylinositol-3-kinase), besides the production of nitric oxide.

Volatile anesthetics have protective effects against myocardial damage when administered for short periods of time during reperfusion. Halothane protected the myocardium against the hypercontractility induced by reoxygenation by preventing the oscillations of intracellular Ca⁺⁺ during the early stages of reperfusion⁸⁵. Administration of volatile anesthetics in isolated hearts during the first 15 minutes of reperfusion protected the myocardium against reperfusion damage⁸⁶. Sevoflurane and desflurane, but not isoflurane, reduced the size of the infarcted area when administered in the first 15 minutes of reperfusion in rabbits⁸⁷. The dose-dependent cardioprotective effect of sevoflurane was confirmed, posteriorly, in mice *in vivo*⁸⁸. More recently, it has been

demonstrated that isoflurane reduced the area of infarction when administered three minutes before and two minutes after the beginning of reperfusion⁸⁹. A selective P13K inhibitor abolished the protective effect of the short exposure to sevoflurane during the beginning of reperfusion, indicating that this protein participates in post-anesthetic conditioning. Activation of P13K contributed for the recruitment of several endogenous signaling mechanisms and pathways to reduce reperfusion damage. Phosphorylation of Akt (pro-survival kinase), stimulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), and activation of PKC were demonstrated to be protective mechanisms of P13K, as well as other drugs, such as insulin⁹⁰, bradykinin⁹¹, and opioids⁹² during reperfusion. Those data suggest that post-anesthetic conditioning seems to be mediated by the P13K cascade and signaling. Isoflurane and sevoflurane also reduced reperfusion damage by decreasing the post-ischemic adhesion of polymorphonuclear leukocytes, which are known mediators of the post-ischemic lesion and represent an important source of ROS^{93,94}. So far, modulation of the oxygen supply and oxygen consumption index of the myocardium contributed for the protective effects of volatile anesthetics during the early stages of reperfusion. The role of the P13K/Akt enzymes in preconditioning should be established to differentiate the mechanisms involved in pre- and post-conditioning.

CONCLUSIONS

A large volume of evidence on the cardioprotective actions of anesthetics when administered before myocardial ischemia or in the early phases of reperfusion has been accumulated over the last decades. Pre- and post-anesthetic conditioning can become powerful tools in the management of patients with ischemic coronariopathy undergoing cardiac and non-cardiac surgeries. Signaling events in APC are present not only in myocytes, but also in other cell types. Therefore, anesthetics can reduce the damage of other organs, which is called remote preconditioning. Several events that occur in APC have been identified; however, further studies demonstrating its importance, activation time, and interconnections are necessary.

REFERÊNCIAS – REFERENCES

01. Mangano DT — Per operative cardiac morbidity. *Anesthesiology*, 1990;72:153-184.
02. Bolli R — Mechanism of myocardial "stunning". *Circulation*, 1990; 82:723-738.
03. Bernier M, Manning AS, Hearse DJ — Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical intervention. *Am J Physiol*, 1989;256:h1344-h1352.
04. DJ, Manning AS, Downey JM, Yellon DM — Xantine oxidase: a critical mediator of myocardial injury during ischemia and reperfusion? *Acta Physiol Scand*, 1986;548:65-74.
05. Warltier DC, Pagel PS, Kersten JR — Approaches to the prevention of per operative myocardial ischemia. *Anesthesiology*, 2000;92:253-259.

06. Freedman BM, Hamm DP, Everson CT et al. — Enflurane enhances post ischemic functional recovery in the isolated rat hearts. *Anesthesiology*, 1985;62:29-33.
07. Schultz JEJ, Rose E, Yao Z et al. — Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts. *Am J Physiol*, 1995;268:H2157-2161.
08. Schultz JEJ, Hsu AK, Gross GJ — Morphine mimics the cardio protection effect of ischemic preconditioning via glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circ Res*, 1996;78:1100-1104.
09. Jennings RD, Reimer KA — The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med*, 1991;42:225-246.
10. Sommerschild HT, Kirkeboen KA — Preconditioning - endogenous defense mechanism of the heart. *Acta Anesthesiol Scand*, 2002;46:123-137.
11. Du Toit EF, Opie LH — Modulation of severity of reperfusion stunning in the isolated rat heart by agents altering calcium flux at onset of reperfusion. *Circ Res*, 1992;70:960-967.
12. Kusuoka H, Camilion de Hurtado MC et al. — Role of sodium/calcium exchange in the mechanism of myocardial stunning: protective effect of reperfusion with high sodium solution. *J Am Coll Cardiol*, 1993;21:240-248.
13. Du XJ, Anderson KE, Jacobsen A et al. — Suppression of ventricular arrhythmias during ischemia-reperfusion by agents inhibiting Ins(1,4,5)P₃ release. *Circulation*, 1995;91:2712-2716.
14. McCormack JG — Characterization of the effects of Ca²⁺ on the intramitochondrial Ca²⁺-sensitive enzymes from rat liver and within intact rat liver mitochondria. *Biochem J*, 1985;231:581-595.
15. Zaugg M, Schaub MC — Signaling and cellular mechanisms in cardiac protection by ischemic and pharmacological preconditioning. *J Mus Res Cell Mot*, 2003;24:219-249.
16. De Hert SG, Turani F, Mathur S et al. — Cardiac protection with volatile anesthetics and clinical implications. *Anesth Analg*, 2005;100:1584-1593.
17. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA — Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986;74:1124-1136.
18. Okubo S, Xi L, Bernardo NL et al. — Myocardial preconditioning: basic concepts and potential mechanisms. *Mol Cell Biochem*, 1999;196:3-12.
19. Nakano A, Cohen MV, Downey JM — Ischemic preconditioning. From basic mechanisms to clinical applications. *Pharmacol Ther*, 2000;86:263-275.
20. Rubino A, Yellon DM — Ischemic preconditioning of vasculature: an overlooked phenomenon for protecting the heart? *Trends Pharmacol Sci*, 2000;21:225-230.
21. Zaugg M, Lucchinetti E, Ueckler M et al. — Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signaling and cytoprotective mechanisms. *Br J Anaesth*, 2003;91:551-565.
22. Bolli R — The late phase of preconditioning. *Circ Res*, 2000;87:972-983.
23. Zaugg M, Lucchinetti E, Garcia C et al. — Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part II. Clinical implications. *Br J Anaesth*, 2003;91:566-576.
24. De Klaver MJ, Manning L, Palmer LA et al. — Isoflurane inhibits cytokine-induced cell death in cultured rat smooth muscle cells and human endothelial cells. *Anesthesiology*, 2002;97:24-32.
25. Julier K, da Silva R, Garcia C et al. — Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded placebo-controlled multicenter study. *Anesthesiology*, 2003;98:1315-1327.
26. Roscoe AK, Christensen JD, Lynch C — Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A₁ receptor and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology*, 2000;92:1692-1701.
27. Hanouz JL, Yvon A, Masseti M et al. — Mechanisms of desflurane-induced preconditioning in isolated human right atria *in vitro*. *Anesthesiology*, 2002;97:33-41.
28. Toller WG, Kersten JR, Pagel PS et al. — Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology*, 1999;91:1437-1446.
29. Uecker M, da Silva R, Grampp T et al. — Translocation of protein kinase-C isoforms to sub cellular targets in ischemic and anesthetic preconditioning. *Anesthesiology*, 2003;99:138-147.
30. da Silva, Grampp T, Pasch T et al. — Differential activation of mitogen activated protein kinases in ischemic and anesthetic preconditioning. *Anesthesiology*, 2004;100:59-69.
31. Tanaka K, Weihrauch D, Ludwig LM et al. — Mitochondrial adenosine triphosphate-regulated potassium channel opening acts as a trigger for isoflurane-induced preconditioning by generating reactive oxygen species. *Anesthesiology*, 2003;98:935-943.
32. Noma A — ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature*, 1983;305:147-148.
33. Nichols CG, Lederer WJ — The regulation of ATP-sensitive K⁺ channel activity in intact and permeabilized rat ventricular myocytes. *J Physiol*, 1990;423:91-110.
34. Inoue I, Nagase H, Kishi K et al. — ATP-sensitive K⁺ channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature*, 1991;352:244-247.
35. Yao Z, Gross GJ — Effects of the KATP channel opener bimakalim on coronary blood flow, monophasic action potential duration, and infarct size in dogs. *Circulation*, 1994;89:1769-1775.
36. Munch-Ellingsen J, Lokebo JE, Bugge E et al. — 5-HD abolishes ischemic preconditioning independently of monophasic action potential duration in the heart. *Basic Res Cardiol*, 2000;95:228-234.
37. Hamada K, Yamazaki J, Nagao T — Shortening of action potential duration is not prerequisite for cardiac protection by ischemic preconditioning or a KATP channel opener. *J Mol Cell Cardiol*, 1998;30:1369-1379.
38. Inagaki N, Gonoi T, Clement JP IV et al. — Reconstitution of IKATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor. *Science*, 1995;270:1166-1170.
39. Suzuki M, Sasaki N, Miki T et al. — Role of sarcolemmal K(ATP) channels in cardio protection against ischemia/reperfusion injury in mice. *J Clin Invest*, 2002;109:509-516.
40. dos Santos R, Kowaltowski AJ, Laclau MN et al. — Mechanisms by which opening the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel protect the ischemic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002;283:H284-295.
41. Dzeja PP, Holmuhamedov EL, Ozcan C et al. — Mitochondria: gateway for cytoprotection. *Circ Res*, 2001;89:744-746.
42. Holmuhamedov EL, Wang L, Terzic A — ATP-sensitive K⁺ channel opener prevent Ca⁺⁺ overload in rat cardiac mitochondria. *J Physiol*, 1999;519:347-360.
43. Holmuhamedov EL, Jovanovic S, Dzeja PP et al. — Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels modulate cardiac mitochondrial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1998;275:H1567-1576.
44. Minners J, Lacerda L, McCarthy J et al. — Ischemic and pharmacological preconditioning in Girard cells and C2C12 myotubes induce mitochondrial uncoupling. *Circ Res*, 2001;89:787-792.
45. Halestrap AP — The regulation of the matrix volume of mammalian mitochondria *in vivo* and *in vitro* and its role in the control of mitochondrial metabolism. *Biochim Biophys Acta*, 1989;973:355-382.
46. Garlid KD — Cation transport in mitochondria: the potassium cycle. *Biochim Biophys Acta* 1996;1275:123-126.
47. Garlid KD — On the mechanism of the regulation of the mitochondrial K⁺/H⁺ exchanger. *J Biol Chem* 1980;255:11273-11279.

48. Green DR, Reed JC — Mitochondrial and apoptosis. *Science*, 1998;281:1309-1312.
49. Akao M, Ohler A, O'Rourke B et al. — Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels inhibit apoptosis induced by oxidative stress in cardiac cells. *Circ Res*, 2001;88:1267-1275.
50. Ozcan C, Bienengraeber M, Dzeja PP et al. — Potassium channel opener protect cardiac mitochondria by attenuating oxidant stress at reoxygenation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282:H531-539.
51. Fryer RM, Eells JT, Hsu AK et al. — Ischemic preconditioning in rats: role of the mitochondrial K(ATP) channel in preservation of the mitochondrial function. *Am J Physiol Heart Cir Physiol*, 2000; 278:H305-312.
52. Tanonaka K, Taguchi T, Koshimizu M et al. — Role of an ATP-sensitive potassium channel opener, YM934, in mitochondrial energy production in ischemic/reperfused heart. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999;291:710-716.
53. Novalija E, Kevin LG, Eells JT et al. — Anesthetic preconditioning improves adenosina triphosphate synthesis and reduces reactive oxygen species formation in mitochondria after ischemia by a redox dependent mechanism. *Anesthesiology*, 2003;98: 1155-1163.
54. Riess ML, Novalija E, Camara AK et al. — Preconditioning with sevoflurane reduces nicotinamide adenine dinucleotide during ischemia/reperfusion in isolated hearts: Reversal by 5-hydroxydecanoic acid. *Anesthesiology*, 2003;98:378-395.
55. Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO et al. — Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: A new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med*, 2000;192:1001-1014.
56. Kroemer G, Reed JC — Mitochondrial control of the cell death. *Nat Med*, 2000;6:513-9.
57. Kowaltowski AJ, Castilho RF, Vercesi AE — Mitochondrial permeability transition and oxidative stress. *FEBS Lett*, 2001; 495:12-15.
58. Hausenloy DJ, Maddock HL, Baxter GF et al. — Inhibiting mitochondrial permeability transition pore: A new paradigm for myocardial preconditioning? *Cardiovasc Res*, 2002;55:534-543.
59. Piriou V, Chiari P, Roesch OG et al. — Effect of desflurane-induced preconditioning on mitochondrial transition pore opening. *Anesthesiology*, 2003;99:A1538.
60. Allard MF, Flint JD, English JC et al. — Calcium overload during reperfusion is accelerated in isolated hypertrophied rat hearts. *J Mol Cell Cardiol*, 1994;26:1551-1563.
61. Miyamae M, Camacho SA, Weimer MW et al. — Attenuation of post ischemic reperfusion injury is related to prevention of [Ca²⁺] overload in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1996;271: H2145-2153.
62. Di Lisa F, Bernardi P — Mitochondrial function as a determinant of recovery or death in cell response to injury. *Mol Cell Biochem*, 1998;184:379-391.
63. An J, Varadarajan SG, Novalija E et al. — Ischemic and anesthetic preconditioning reduces cytosolic [Ca²⁺] and improves Ca²⁺ responses in intact hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001;281:H1508-1523.
64. Varadarajan SG, An J, Novalija E et al. — Sevoflurane before or after ischemia improves contractile and metabolic function while reducing myoplasmatic Ca²⁺ loading in intact hearts. *Anesthesiology*, 2002;96:125-133.
65. Wang L, Cherednichenko G, Hernandez L et al. — Preconditioning limits mitochondrial Ca²⁺ during ischemia in rat hearts: Role of K(ATP) channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001;280: H2321-2328.
66. Riess ML, Camara AK, Novalija E et al. — Anesthetic preconditioning attenuates mitochondrial Ca²⁺ overload during ischemia in guinea pigs intact hearts: Reversal by 5-hydroxydecanoic acid. *Anesth Analg*, 2002;95:1540-1546.
67. Siegmund B, Schlack W, Ladilov YV et al. — Halothane protects cardiomyocytes against reoxygenation-induced hyper contracture. *Circulation*, 1997;96:4372-4379.
68. Davies LA, Gibson CN, Boyett MR et al. — Effects of isoflurane, sevoflurane and halothane on myofilament Ca²⁺ release in rat ventricular myocytes. *Anesthesiology*, 2000;93:1034-1044.
69. Zucchi R, Ronca F, Ronca Testoni S — Modulation of sarcoplasmic reticulum function: A new strategy in cardio protection? *Pharmacol Ther*, 2001;89:47-65.
70. Piper HM, Meuter K, Schaefer C — Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, 2003;75:S644-648.
71. Mullenhein J, Ebel D, Frassdorf J et al. — Isoflurane preconditions myocardium against infarction via release of free radicals. *Anesthesiology*, 2002;96:934-940.
72. Tanaka K, Weihrauch D, Khel F et al. — Mechanism of preconditioning by isoflurane in rabbits: a direct role for reactive oxygen species. *Anesthesiology*, 2002;97:1485-1490.
73. Kevin LG, Novalija E, Riess ML et al. — Sevoflurane exposure generates superoxide but leads to decreased superoxide during ischemia and reperfusion in isolated hearts. *Anesth Analg*, 2003; 96:949-955.
74. Hall GM, Kirtland SJ, Baum H — The inhibition of mitochondrial respiration by inhalational anaesthetic agents. *Br J Anaesth*, 1973;45:1005-1009.
75. Hanley PJ, Ray J, Brandt U et al. — Halothane, isoflurane and sevoflurane inhibits NADH-ubiquinone oxidoreductase (complex I) of cardiac mitochondria. *J Physiol*, 2002;544:687-693.
76. Riess ML, Camara AK, Chen Q et al. — Altered NADH and improved function by anesthetic and ischemic preconditioning in guinea pig intact hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002; 283:H53-H60.
77. Riess ML, Eells JT, Kevin LG et al. — Attenuation of mitochondrial respiration by sevoflurane in isolated cardiac mitochondria is mediated in part by reactive oxygen species. *Anesthesiology*, 2004;100:498-505.
78. Ludwig LM, Tanaka K, Eells JT et al. — Preconditioning by isoflurane is mediated by reactive oxygen species generated from mitochondrial electron transport chain complex III. *Anesth Analg*, 2004a;99:1308-1315.
79. Piriou V, Chiari P, Gateau-Roesch O et al. — Desflurane-induced preconditioning alters calcium-induced mitochondrial permeability transition. *Anesthesiology*, 2004;100:581-588.
80. Vanden Hoeck TL, Shao Z, Li C et al. — Reperfusion injury on cardiac myocytes after simulated ischemia. *Am J Physiol*, 1996; 270:H1334-H1341.
81. Piper HM, Abdallah Y, Schaefer C — The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection. *Cardiovasc Res*, 2004;61:365-371.
82. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME et al. — Inhibition of myocardial injury by ischemic post conditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003;285:H579-H588.
83. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY et al. — Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res*, 2004;62;74-85.
84. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM et al. — Postconditioning: a form of "modified reperfusion" protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway. *Circ Res*, 2004;95:230-232.
85. Stadnicka A, Bosnjak ZJ — Isoflurane decreases ATP sensitivity of guinea pig cardiac sarcolemal KATP channel at reduced intracellular pH. *Anesthesiology*, 2003;98:396-403.
86. Schlack W, Preckel B, Stunneck D et al. — Effects of halothane, enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on myocardial

- reperfusion injury in the isolated rat heart. *Br J Anaesth*, 1998; 81:913-919.
87. Preckel B, Schlack W, Comfere T et al. — Effects of enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on reperfusion injury after regional ischemia in the rabbit heart *in vivo*. *Br J Anaesth*, 1998;81:905-912.
 88. Obal D, Preckel B, Scharbatke H et al. — One MAC of sevoflurane provides protection against reperfusion injury in the rat heart *in vivo*. *Br J Anaesth*, 2001;87:905-911.
 89. Chiari PC, Bienengraeber M, Pagel OS et al. — Isoflurane protects against myocardial infarction during early reperfusion by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction: evidence for anesthetic-induced postconditioning in rabbits. *Anesthesiology*, 2005;102:102-109.
 90. Sack MN, Yellon DM — Insulin therapy as an adjunct to reperfusion after acute coronary ischemia: a proposed direct myocardial cell survival effect independent of metabolic modulation. *J Am Coll Cardiol*, 2003;41:1404-1407.
 91. Yang XM, Krieg T, Cui L et al. — NECA and bradykinin at reperfusion reduce infarction in rabbit hearts by signaling through PI3K, ERK, and NO. *J Mol Cell Cardiol*, 2004;36:411-421.
 92. Gross ER, Hsu AK, Gross GJ — Opioid-induced cardioprotection occurs via glycogen synthase inase beta inhibition during reperfusion in intact hearts. *Circ Res*, 2004;94:960-966.
 93. Heindl B, Reichle FM, Zahler S et al. — Sevoflurane and isoflurane protect the reperfused guinea pig heart by reducing post ischemic adhesion of polymorphonuclear neutrophils. *Anesthesiology*, 1999;91:521-530.
 94. Vinten-Johansen J — Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 2004;61:481-497.

RESUMEN

Pasqualin RC, Auler Jr JOC — Protección Miocárdica por el Pre y el Poscondicionamiento Anestésico.

JUSTIFICATIVA Y OBJETIVO: *La isquemia miocárdica perioperatoria es un evento generalmente observado en el período perioperatorio pudiendo aumentar significativamente para la morbi-mortalidad posquirúrgica. Las propiedades cardioprotectoras de los anestésicos volátiles y de los opioides, han sido estudiadas durante algunas décadas y hoy por hoy se han convertido en poderosas herramientas para el manejo de pacientes con enfermedad coronaria isquémica. El objetivo de esta revisión fue el de ofrecer bases sobre la protección miocárdica por preconditionamiento.*

CONTENIDO: *Se discutirán los conceptos sobre lesión celular proveniente de la isquemia y de la perfusión, preconditionamiento isquémico (PCI), preconditionamiento anestésico (PCA), como también los mecanismos de Protección miocárdica. Recientes estudios en cirugía cardíaca demostraron que la aplicación de cortos períodos de isquemia, durante la perfusión, puede reducir el área de infarto del miocardio. Los anestésicos volátiles también pueden presentar un efecto protector en la perfusión miocárdica. Independientemente de la vía de señalización que conlleva al preconditionamiento, tanto los que envuelven anestésicos como el isquémico, se considera que los canales de KATP dependientes mitocondriales sean los mediadores finales de la cardio protección por controlar el flujo de calcio en la mitocondria y prevenir la inducción de la necrosis y de la apoptosis. A pesar de que el PCI y el PCA de hecho reduzcan el área de infarto del miocardio y mejoren la función ventricular postoperatoria, es importante destacar que esos tratamientos deben ser anteriores al evento isquémico en el sentido de justificar su aplicabilidad clínica.*

CONCLUSIONES: *Los fenómenos conocidos como preconditionamiento isquémico y preconditionamiento anestésico del miocardio, son muy conocidos, siendo el mecanismo de protección similar en ambas situaciones, sin embargo no todos los pasos que conllevan a esa protección fueron completamente aclarados. Más investigaciones se hacen necesarias para que las propiedades cardioprotectoras de los agentes anestésicos puedan tener aumentada su aplicabilidad clínica.*