

Nome: Diana Marta Feiteira Mano

Nº aluno: 200802713

Grau académico: Mestrado Integrado em Medicina – 6º ano

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Universidade do Porto

Endereço electrónico: dianamano@gmail.com

EFEITOS DA ANESTESIA GERAL NO NEURODESENVOLVIMENTO INFANTIL

Artigo de revisão Bibliográfica

Tese de candidatura ao grau de
Mestre em Medicina submetida ao
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar
da Universidade do Porto

Orientador: Professor Doutor Humberto Machado

Categoria: Diretor do Serviço de Anestesiologia
do Centro Hospitalar do Porto e Professor
associado convidado do ICBAS.

Afiliação: Centro Hospitalar do Porto

Coorientadora: Dra. Alexandra Saraiva

Categoria: Médica interna de formação específica
em Anestesiologia

Afiliação: Centro Hospitalar do Porto

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço á minha mãe pela paciência incansável e por ter tornado tudo tão mais fácil.

Agradeço ao meu irmão pela motivação e pelo exemplo.

Ao Hugo Oliveira, meu namorado, pela presença incondicional, pelo optimismo e pelas boas energias.

Agradeço ao Doutor Humberto Machado por ter aceite o pedido para me orientar neste projeto e pela disponibilidade que demonstrou.

Um agradecimento muito especial á Dra. Alexandra Saraiva pela compreensão, pelo incentivo, pelo exemplo e pela disponibilidade oferecida.

E por último, agradeço-te a ti Pai, por seres a força e a motivação que me fez chegar até aqui.

RESUMO

Contexto: Estudos pré-clínicos publicados ao longo dos últimos anos têm levantado preocupações alarmantes sobre alguns dos anestésicos gerais usados rotineiramente na prática clínica pediátrica, mostrando que estes fármacos podem ter um impacto significativo na função neurocognitiva numa fase mais tardia da vida. **Objetivo:** O objetivo desta revisão é fazer uma análise da evidência de indução de neurotoxicidade pelos anestésicos gerais e o seu impacto na função cognitiva. **Métodos:** A revisão bibliográfica foi baseada em livros publicados e evidência disponível na base de dados online Pub Med. A pesquisa foi feita usando as expressões: anestesia geral, neuroapoptose, neurodesenvolvimento e neurotoxicidade. Estudos *in vivo* em ratos e macacos e estudos recentes *in populo* foram incluídos nesta revisão. **Resultados:** In *in vivo*, os anestésicos inalatórios assim como os intravenosos, particularmente quando usado em combinação, têm sido associados a apoptose das células neuronais com mudanças neurodegenerativas dose dependente e défices de aprendizagem, memória e cognição a longo prazo. Contudo, as conclusões dos estudos clínicos conduzidos *in populo* no sentido de investigar a relação entre a anestesia geral e os défices do neurodesenvolvimento têm sido inconsistentes. Os estudos retrospectivos disponíveis sugerem que múltiplas exposições anestésicas em idade jovem podem acarretar algum risco de défices neurocognitivos, no entanto não conseguem estabelecer uma relação causal direta. Atualmente, estão em curso os estudos de grande escala como o PANDA, MASK e GAS para explorar esta relação de forma mais objectiva. **Conclusão:** A anestesia é necessária para permitir procedimentos cirúrgicos seguros nas crianças que necessitam de cirurgia. Até serem clarificados a neurotoxicidade associada a anestesia e os seus mecanismos, parece sensato restringir as cirurgias e anestesia numa idade precoce aos casos absolutamente necessários.

Palavras-chave: Anestesia geral; neurotoxicidade anestésica; défices neurocognitivos; neurodesenvolvimento; neuroapoptose;

ABSTRACT

Background: Preclinical findings reported over the past years have raised alarming worries about some of the anesthetics used routinely in pediatric clinical practice showing that drugs can have significant impact on neurocognitive function later in life. **Objective:** The objective of this review is to analyze the evidence of anesthetics-induced neurotoxicity and its impact on cognitive function. **Methods:** The literature review was based on published books and evidence available on the online data base Pub Med. The search was performed by using the key words: general anaesthesia, neuroapoptosis, neurodevelopment and neurotoxicity. *In vivo* studies in rodents and monkeys and some recently studies *in populo* were included in this review. **Results:** In *in vivo* models, inhalatory as well as intravenous drugs, particularly when used in combination, have been associated to neurodegenerative dose-dependent changes and learning, memory and cognitive deficits. However, conclusions from clinical studies conducted *in populo* in order to investigate the relationship between anesthesia and neurodevelopmental deficits have been inconsistent. The retrospective studies available suggest that multiple exposures to anaesthesia at young age might entail risk of neurocognitive deficits. However, the evidence was not able to establish a causal relationship. Currently, the large-scale PANDA, MASK and GAS studies are ongoing to explore this relationship more objectively. **Conclusion:** Anaesthesia is necessary to allow safe surgical procedures in children who need surgery. Until anaesthesia-related neurotoxicity and its mechanisms are clarified, it seems wise to restrict surgery and anaesthesia at a very young age to the absolutely necessary cases.

Key-words: General anesthesia; anesthetics neurotoxicity; neurocognitive deficits; neurodevelopment; neuroapoptose;

LISTA DE ABREVIATURAS

GABA - Ácido γ -aminobutírico

NMDA - N-metil-D-aspartato

AMPA - Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico

SNC - Sistema nervoso central

NGF - *Nervous growth factor*

NT3 - Neurotrofina 3

BDNF - *Brain-derived neurotrophic factor*

EEG - Eletroencefalograma

HCN - Nucleótidos cíclicos ativados pela hiperpolarização

TNF- α - Fator de necrose tumoral α

ROS - Espécies reativas do Oxigênio

InsP₃R - Recetores de inositol 1,4,5-trifosfato

p75^{NTR} - Recetor neurotrófico p75

IL - Interleucina

PEA - Perturbações do espectro do autismo

CBCL - *Child Behavior Checklist*

IEP - *Individualized Educacional Programs*

IEP-EBD - *Emotional Behavioral Disorders*

IEP-SL - *Speech and language impairments*

TDAH - Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade

SDMT - *Symbol Digit Modality Teste*

CPM - *Raven's Colored Progressive Matrices*

MAND - *McCarron Assessmente of Neuromuscular Development*

CELF - *Clinical Evaluation of Language Fundamentals*

ICD-9 - *International Classification of Diseases, 9th Revision*

WAMSE - Western Australian Monitoring Standards in Education

PANDA - *Pediatric Anesthesia and neurodevelopment Assessment*

GAS - *General Anesthesia and Spinal*

MASK - *Mayo Anesthesia Safety in Kids*

NPOBCs - *Negative postoperative behavioral changes*

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	7
2 NEURODESENVOLVIMENTO	9
3 MECANISMOS DE AÇÃO DOS ANESTÉSICOS GERAIS	11
4 MECANISMOS DE NEUROTOXICIDADE	14
5 EVIDÊNCIA DA NEUROTOXICIDADE <i>IN VIVO</i>	16
5.1 EVIDÊNCIA DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS	16
5.1.1 RATOS.....	16
5.1.2 MACACOS	17
5.2 EVIDÊNCIA DAS ALTERAÇÕES COGNITIVAS	17
6 EVIDÊNCIA DA NEUROTOXICIDADE ANESTÉSICA <i>IN POPULO</i>	19
6.1 ESTUDOS RETROSPETIVOS	19
6.2 ESTUDOS EM CURSO	21
7 DISCUSSÃO	23
7.1 LIMITAÇÃO DOS ESTUDOS <i>IN VIVO</i>	23
7.2 LIMITAÇÃO DOS ESTUDOS <i>IN POPULO</i>	23
7.3 AGENTES INALATÓRIOS VS INTRAVENOSOS	24
7.4 OS EXTREMOS DE IDADE E A VULNERABILIDADE À NEUROTOXICIDADE.....	25
8 CONCLUSÃO	27
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

INTRODUÇÃO

A anestesia geral é um dos maiores avanços da medicina e tem tornado possível a realização de procedimentos cirúrgicos e diagnósticos com segurança e em condições apropriadas. Consiste numa condição reversível, induzida por fármacos, caracterizada por comportamentos e parâmetros fisiológicos específicos. O estado anestésico é traduzido por inconsciência, amnésia, analgesia e acinesia com estabilidade dos sistemas autonómico, cardiovascular, respiratório e termorregulador [1]. Estes efeitos são produzidos por uma resposta farmacológica complexa produzida por uma classe heterogénea de agentes cujos mecanismos de ação permanecem ainda por esclarecer na totalidade. São poucos os anestésicos gerais cujos alvos moleculares estão totalmente documentados, no entanto, são conhecidos múltiplos alvos candidatos à sua ação, nomeadamente canais iónicos ativados por ligantes responsáveis pela inibição [recetores do ácido γ -aminobutírico (GABA) e recetores de glicina] ou excitação [recetores N-metil-D-aspartato (NMDA) e ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) para o glutamato] da transmissão sináptica, e outros canais iónicos condutores de sódio, cálcio e potássio (Na^+ , Ca^{2+} e K^+) reguladores da excitabilidade e transmissão química.

O alívio da dor, controlo da ansiedade e manutenção de sinais vitais estáveis, são alguns dos efeitos benéficos conseguidos pela anestesia geral. Contudo, considerando a variedade de alvos moleculares abrangidos pelos anestésicos gerais, não é de surpreender a associação do seu uso à ocorrência de efeitos secundários não anestésicos potencialmente nocivos. Em modelos animais a exposição à anestesia geral está associada à apoptose das células neuronais com mudanças neurodegenerativas dose dependente e défices do comportamento cognitivo. Com a evidência crescente da associação da anestesia geral com alterações negativas no neurodesenvolvimento animal, emerge a necessidade de avaliar a ocorrência desses efeitos na população pediátrica. Neste grupo etário o cérebro atravessa uma fase crítica do seu desenvolvimento por se encontrar sob influência de alterações dinâmicas que o tornam particularmente vulnerável. Na idade pediátrica, a suscetibilidade cerebral aos tóxicos é superior durante o período de sinaptogénese intensa, refletindo a disrupção do equilíbrio normal entre a excitação e inibição cerebral. Numa fase em que a medicina se encontra em constante evolução, a frequência crescente de intervenções cirúrgicas em crianças e recém-nascidos com uso de anestesia geral exige a necessidade da realização de estudos que comprovem a segurança deste procedimento ou demonstrem os riscos que lhe estão associados.

O objetivo desta revisão é analisar as publicações existentes relativas aos mecanismos de ação dos anestésicos gerais, análise da evidência de indução de neurotoxicidade pelos mesmos e qual o seu impacto na função cognitiva na população pediátrica.

2 NEURODESENVOLVIMENTO

O neurodesenvolvimento é um fenómeno complexo e dinâmico com início no momento da concepção e que perdura pelos primeiros anos de vida, sendo responsável pelo desenvolvimento de uma série de parâmetros individuais desde o crescimento físico, maturação cerebral, cognitiva, social e afetiva. O desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC) dos mamíferos envolve processos celulares complexos como a neurogénese, diferenciação celular em subgrupos altamente especializados, proliferação, migração, sinaptogénese e mielinização axonal. A duração e o momento em que estes processos ocorrem são variáveis entre as diferentes espécies, marcando períodos de suscetibilidade cerebral diferentes aos estímulos tóxicos. No humano, o período de rápido crescimento e maturação cerebral tem início no terceiro trimestre da gestação e perdura até ao segundo ou terceiro anos de vida [2], enquanto que nos ratos a maturação cerebral ocorre rapidamente durante as duas primeiras semanas de vida [3] e nos macacos rhesus entre o dia 5 e o dia 16 pós-natal [4].

O processo do neurodesenvolvimento tem início com a formação do SNC ao dia 18 após a fecundação a partir do espessamento da parte mais dorsal da ectoderme que dá origem à placa neural. Segue-se divisão e migração celular intensa que resultam na formação de cinco vesículas principais ao final do terceiro mês de gestação, que darão origem ao cérebro primitivo, cerebelo, mesencéfalo, diencéfalo e tronco cerebral. Nesta fase o cérebro humano é constituído aproximadamente por 125 000 células, sendo que durante o restante período da gestação, esse número aumenta até atingir 1 bilião de neurónios [5].

No que diz respeito à constituição celular, o SNC é vulgarmente descrito como apresentado duas categorias funcionais principais: os neurónios e as células da glia. Os neurónios são células excitáveis, altamente diferenciadas e especializadas na receção, condução e transmissão de impulsos nervosos através da sua membrana celular. As células da glia são as células mais abundantes do SNC e representam função essencialmente de suporte, com funções importantes de orientação, nutrição, regeneração e controlo do metabolismo neural [6].

Uma das etapas mais importantes do desenvolvimento cerebral é a sinaptogénese e a criação de conexões celulares que alcançam a intensidade máxima por volta dos 2 anos. Nesta fase o cérebro infantil atinge 80% do seu peso final e apresenta um número de sinapses equivalente ao de um adulto, concedendo-lhe capacidades excepcionais de crescimento, plasticidade e flexibilidade [6; 7]. O pico da sinaptogénese varia de acordo com as regiões cerebrais, sendo que o mais precoce ocorre no córtex sensitivo-motor logo após o nascimento. É seguido pelo córtex de

associação parietal e temporal essenciais para a linguagem e atenção espacial, onde o pico ocorre aos 9 meses. A última região a atingir a sinaptogênese máxima é o córtex pré-frontal por volta dos 2-3 anos, sendo este a chave para o desenvolvimento das funções executivas e integrativas superiores. Durante o processo fisiológico normal do desenvolvimento do SNC ocorre produção excessiva de neurónios que é compensada por um processo de eliminação dos neurónios supranumerários [8; 11]. A última etapa da maturação do SNC é marcada pela mielinização axonal que apresenta relação direta com a aprendizagem e o desenvolvimento cognitivo [12].

Vários fatores são importantes para que o desenvolvimento cerebral ocorra dentro da normalidade e os neurotransmissores assumem um papel de destaque na regulação deste processo. Os neurotransmissores são moléculas reguladoras que integram o microambiente cerebral desde os estádios precoces do desenvolvimento [4] e alguns estudos mostram evidência de poderem atuar como fatores de crescimento durante períodos específicos do desenvolvimento cerebral [13-15].

No cérebro humano a neurotransmissão excitatória é mediada por dois aminoácidos principais, o glutamato e o aspartato, sendo o primeiro o mais abundante. A ação predominante do glutamato é a ativação dos recetores NMDA, contribuindo de forma essencial para a neurogênese, diferenciação neuronal e sinaptogênese [16-18]. O GABA é o neurotransmissor inibitório predominante sendo possível detetá-lo a partir das 6 semanas de gestação [11]. O GABA parece apresentar um papel importante na migração e maturação dos precursores neuronais ao aumentar a mobilidade celular [19-22] e modular parcialmente o crescimento dendrítico dos neurónios do hipocampo e do cerebelo [23].

Algumas neurotrofinas como o *nervous growth factor* (NGF), neurotrofina 3 (NT3) e o *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) assumem um papel igualmente relevante na neurogênese e diferenciação neuronal. O BDNF apresenta uma importância acrescida ao regular a diferenciação das células progenitoras e formação de axónios e dendrites, assumindo um papel central na manutenção da sobrevivência das células nervosas [12; 24]. Quando os neurónios ficam desprovidos de fatores tróficos, é iniciada uma cascata de fenómenos que inclui a diminuição da síntese de macromoléculas, ativação da Bax e das caspases com morte celular subsequente [24].

3 MECANISMOS DE AÇÃO DOS ANESTÉSICOS GERAIS

O estado anestésico é caracterizado por inconsciência, amnésia, analgesia e acinesia com estabilidade dos sistemas autonómico, cardiovascular, respiratório e termorregulador [1]. A anestesia geral produz padrões distintos no eletroencefalograma (EEG), sendo o mais comum o que apresenta aumento progressivo da atividade de baixa frequência e alta amplitude [1]. Estes efeitos são produzidos como resposta à ação de uma classe heterogênea de fármacos cujos mecanismos de ação permanecem ainda por esclarecer na totalidade. Estudos clínicos e de ciência básica indicam que os anestésicos gerais induzem inconsciência por alteração da neurotransmissão em múltiplos circuitos do córtex, tronco cerebral e tálamo [1]. O GABA e o glutamato são os dois principais neurotransmissores cerebrais dos mamíferos, responsáveis pela atividade cerebral inibitória e excitatória, respetivamente. Diversos estudos têm identificado receptores GABA e NMDA no córtex [25-31], tálamo, tronco cerebral e estriado como sendo dois importantes alvos da atuação dos anestésicos gerais [1].

A classe farmacológica dos anestésicos gerais encontra-se dividida em duas categorias principais de acordo com a via de administração: agentes anestésicos inalatórios e intravenosos. Do grupo dos anestésicos inalatórios fazem parte o halotano, xénon, protóxido de azoto, enflurano, desflurano, isoflurano e sevoflurano, sendo os últimos três os mais comumente utilizados na prática clínica. O propofol, etomidato, barbitúricos e a ketamina fazem parte do grupo de anestésicos gerais intravenosos. Como adjuvantes dos anestésicos gerais existem ainda mais três grupos de fármacos que em conjunto permitem atingir estados facilitadores da cirurgia. Deste grupo fazem parte os relaxantes musculares inibidores seletivos da transmissão neuromuscular, as benzodiazepinas que ajudam a prevenir estados de ansiedade e promover a amnésia anterógrada e os fármacos opióides que permitem alcançar uma analgesia adequada a cada procedimento [32]. Estudos moleculares recentes têm identificado um número crescente de alvos onde os anestésicos gerais atuam de modo a produzir os efeitos terapêuticos que lhes estão associados, demonstrando que os diferentes tipos de anestésicos atuam através de mecanismos distintos e possivelmente em circuitos neurais diferentes [33; 34].

São propostos dois processos principais para ação dos anestésicos gerais: depressão da atividade do SNC secundária ao aumento da neurotransmissão inibitória via receptores GABA [35; 36] ou inibição da transmissão excitatória via recetores de glutamato NMDA [37]. O grosso dos anestésicos gerais interage com estes dois recetores, no entanto são conhecidos outros alvos potenciais da ação destes fármacos,

nomeadamente os recetores de glicina, recetores AMPA [37], família de canais controlados por nucleótidos cíclicos ativados pela hiperpolarização (HCN) [38], canais de K^+ *two-pore domain* [39] e canais de Na^+ dependentes da voltagem.

O neurotransmissor GABA interage com uma família de recetores cujo mais importante em contexto de anestesia é o receptor $GABA_A$ que funciona como um recetor ionotrópico. A ligação do GABA ao receptor $GABA_A$ induz a abertura de canais iónicos com influxo de iões cloro (Cl^-), resultando em hiperpolarização da célula que dificulta a despolarização celular e conseqüentemente diminuiu a excitabilidade cerebral. Estes recetores são altamente sensíveis à regulação alostérica positiva pelo propofol, anestésicos gerais inalatórios, barbitúricos e benzodiazepinas [40]. Pesquisas recentes apresentam novas hipóteses relativamente ao mecanismo de ação do propofol tendo em conta as alterações observadas nos padrões do EEG. Num estudo publicado em 2014, Akeju e colaboradores [41] sugerem que o propofol é capaz de provocar um estado profundo de inconsciência ao induzir oscilações lentas de grande amplitude que produzem um estado prolongado de “silêncio neuronal”. Neste estudo, foram observadas oscilações α de grande amplitude e elevada coerência, bem como oscilações δ de grande amplitude durante o período de inconsciência induzido pelo propofol [41]. Em modelos biofísicos tem sido sugerida uma base tálamo-cortical para as oscilações α frontais induzidas pelo propofol. Acredita-se que a atividade α frontal contribua para as alterações de consciência ao restringir a comunicação dentro dos circuitos tálamo-corticais frontais, estreitando a banda de frequência [41]. Estas oscilações α frontais induzidas pelo propofol parecem surgir por aumento da atividade inibitória dos recetores GABA nos interneurónios talâmicos e corticais [41].

Ao contrário do propofol, a ketamina e os anestésicos inalatórios não halogenados apresentam pouco ou nenhum efeito nos recetores $GABA_A$ e atuam preferencialmente deprimindo a transmissão excitatória por bloqueio pós-sináptico dos recetores NMDA de glutamato [37]. O glutamato interage com uma vasta família de recetores metabotrópicos e ionotrópicos, sendo o recetor NMDA o mais importante em contexto de anestesia. A ativação destes recetores cursa com influxo de iões Na^+ e pequenas quantidades de Ca^{2+} e efluxo de K^+ . A ketamina é um dos principais anestésicos que exerce a sua ação atuando pelo antagonismo dos recetores NMDA. Diferentemente dos anestésicos gerais comuns como o isoflurano e o propofol, a ketamina não ativa o núcleo promotor do sono no hipotálamo [42] nem deprime o tálamo metabolicamente [43]. Alternativamente, ativa o locus coeruleus promotor do estado de alerta [42]. Outra das particularidades da ketamina consiste na tendência em aumentar a intensidade da atividade cortical electroencefalográfica de alta frequência, ao contrário da maioria dos anestésicos que

deprimem esta banda de frequências. [44]. No ano de 2009, Blain-Moraes e colaboradores [45] demonstraram que doses anestésicas de ketamina inibem a conectividade fronto-parietal dirigida na banda das oscilações α . Esta inibição seletiva também foi encontrada com o sevoflurano e propofol [46], sugerindo que as alterações das oscilações α da conectividade dirigida pode representar um marcador do estado de consciência induzido por agentes anestésicos com mecanismos distintos.

4 MECANISMOS DE NEUROTOXICIDADE

Nos últimos anos tem crescido evidência consistente, da ciência básica aos estudos clínicos, acerca da neurotoxicidade induzida pelos anestésicos gerais particularmente nos extremos de idade. No que diz respeito à população pediátrica, apesar de ainda não serem bem conhecidos os mecanismos pelos quais os anestésicos gerais podem induzir neurotoxicidade, os dados existentes até agora sugerem três mecanismos principais: aumento da apoptose neuronal, diminuição da neurogênese e neuroinflamação [47].

A apoptose é um processo consumidor de energia através do qual as células funcionalmente redundantes ou potencialmente nocivas ao organismo sofrem morte celular programada pela ativação da cascata enzimática das caspases. A neuroapoptose induzida pela anestesia resulta de processos relacionados com a mitocôndria e outros organelos celulares [48].

Na mitocôndria a neuroapoptose está tipicamente associada à ativação das vias intrínseca e extrínseca da cascata apoptótica. Uma das hipóteses propostas é que a supressão da sinalização sináptica induzida pela anestesia geral promova diminuição dos fatores neurotróficos com ativação consequente da via intrínseca da apoptose [49]. A ativação desta via vai conduzir à mobilização da proteína Bax pró-apoptótica, aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial com libertação do citocromo C para o citoplasma, ativação da caspase-9 e caspase-3 com clivagem do DNA e morte celular [47; 48]. A via extrínseca geralmente é ativada por um estímulo externo como as citocinas, nomeadamente fator de necrose tumoral α (TNF- α), com ativação de recetores localizados na membrana celular ativação da caspase-8 e ativação subsequente da caspase-3. A apoptose cerebral pode ocorrer também em contexto de disfunção mitocondrial por alteração da morfologia do próprio organelo. Esta disfunção vai cursar com acumulação de espécies reativas de oxigénio (ROS) e aumento da oxidação lipídica e proteica com dano das membranas celulares dos vários organelos e nova formação de ROS [48; 50-52]. O retículo endoplasmático é também apontado como um dos organelos potencialmente envolvido na neuroapoptose induzida pela anestesia geral. Alguns anestésicos como o isoflurano e sevoflurano ativam os recetores de inositol 1,4,5-trifosfato (InsP₃R) levando a uma libertação prolongada de Ca²⁺ para o citoplasma. Este aumento do Ca²⁺ citoplasmático leva à alteração da permeabilidade da membrana mitocondrial e à subregulação da proteína anti-apoptótica Bcl-xL com promoção da apoptose [48; 53]. A ativação dos lisossomas com aumento do Ca²⁺ e consequente produção de vacúolos autofágicos é também um dos mecanismos propostos para a neuroapoptose mediada pela anestesia [48].

Alguns autores sugerem uma cascata apoptótica dependente do BDNF. O BDNF consiste numa neurotrofina secretada como um pró-fator (pró-BDNF), sendo posteriormente clivada pela plasmina e dando origem ao BDNF maduro (mBDNF) com importância na maturação e sinalização sináptica [54; 55]. A estimulação neuronal apresenta um papel importante para que este processo ocorra. Na ausência de clivagem o pró-BDNF liga-se ao recetor neurotrófico p75 (p75^{NTR}), ativa a RhoA e induz despolimerização do citoesqueleto celular, inibição do crescimento axonal e apoptose [56]. A inibição da estimulação cerebral e consequente ausência de despolarização neuronal, pode comprometer a conversão do pró-BDNF em mBDNF, cursando com ativação preferencial do p75^{NTR} e apoptose celular consequente [56]. Alguns estudos com isoflurano [57; 58] e propofol [56] propõem este mecanismo como potencial indutor de neuroapoptose.

São encontrados efeitos marcados de diminuição da neurogénese com supressão da proliferação das células progenitoras neurais em ratos expostos a isoflurano [59]. Considerando que a neurogénese é essencial para a função cognitiva e reparação da lesão cerebral, a inibição que o isoflurano exerce sobre este processo pode representar um papel significativo no desenvolvimento de disfunção cognitiva.

Descobertas recentes sugerem que a inflamação neuronal mediada por citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente o TNF- α , interleucina (IL) 6 e a IL-1 β possa ser um dos mecanismos associada à neurotoxicidade da anestesia geral, particularmente ao isoflurano [60; 61].

A fase do desenvolvimento aquando da exposição anestésica, bem como a dose, frequência e duração da exposição são fatores moduladores da neurotoxicidade induzida pela anestesia geral. Parece existir uma associação direta dos efeitos neurotóxicos com a dose da anestesia, verificando-se que a extensão da apoptose neuronal, assim como as alterações do desenvolvimento, sinaptogénese e diferenciação celular são mais marcados com o aumento das doses e da duração de exposição [62 - 66].

5 EVIDÊNCIA DA NEUROTOXICIDADE *IN VIVO*

Estudos experimentais realizados em modelos animais têm demonstrado evidência da neurotoxicidade anestésica associada tanto aos agentes inalatórios como aos intravenosos, usados de forma isolada ou em combinação durante o período máximo da sinaptogênese.

5.1 EVIDÊNCIA DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS

5.1.1 RATOS

Vários estudos associam a exposição à ketamina no período pós-natal ao aumento da apoptose cerebral [62; 63; 65; 67-69]. Um estudo realizado por Ikonomidou e colaboradores [67] em ratos no dia 7 pós-natal verificou um aumento significativo da apoptose neuronal em diferentes regiões cerebrais (particularmente no tálamo) após a administração de múltiplas injeções de ketamina. Em 2004, Scallet e colaboradores [63] obtiveram resultados semelhantes com doses de ketamina de 20 mg/kg.

No que diz respeito ao propofol, um estudo de 2008 concluiu que a exposição a $\frac{1}{4}$ da dose necessária para atingir o estado anestésico adequado induz neuroapoptose significativa em ratos jovens [70].

Quanto às benzodiazepinas os resultados são discordantes. Estudos com exposição neonatal ao diazepam (10-30 mg/kg) demonstraram aumento da neurodegeneração [71; 72], enquanto que doses inferiores (5 mg/kg) não foram associadas a qualquer alteração [72]. Alguns estudos revelaram que, de forma semelhante às benzodiazepinas, também os barbitúricos [72; 73] e o isoflurano podem induzir neurodegeneração dependente da dose e tempo de exposição.

As combinações anestésicas comumente usadas na anestesia foram associadas a efeitos mais marcados no aumento da neuroapoptose com défices cognitivos a longo prazo [74; 65]. Num dos estudos de maior relevância publicado em 2003 por Jevtovic-Todorovic e colaboradores, ratos no dia 7 pós-natal foram expostos à combinação de midazolam, protróxido de azoto e isoflurano durante 6h, sendo observado um aumento significativo dos marcadores de apoptose e défices na função sináptica do hipocampo. [74]. Em 2005, Young C e colaboradores [75] mostraram existir uma exacerbação da resposta neuroapoptótica aquando da exposição simultânea à ketamina ou midazolam, quando comparada com o seu uso isoladamente. A associação de isoflurano e protróxido de azoto foi estudada por Zhou e colaboradores [76] em ratos no dia 7 pós-natal, tendo sido associada a aumento da apoptose nos neurónios glutaminérgicos, GABAérgicos e

dopaminérgicos. Um estudo publicado em 2008 excluiu a hipoglicemia como potencial fator de lesão neuronal, demonstrando que a exposição ao isoflurano por uma ou mais horas despoleta apoptose neuronal independentemente do controlo glicémico [65]. O protóxido de azoto parece ser o único anestésico inalatório que não mostrou estar associado a neurotoxicidade quando usado isoladamente. Contudo, a sua associação a outros anestésicos pode representar um efeito tóxico aditivo com agravamento da extensão da neurotoxicidade [74; 75].

5.1.2 MACACOS

Em 2007, um estudo expôs macacos com 122 semanas, dias 5 e 35 pós-natal à anestesia com ketamina durante 24h, sendo que foi observada neuroapoptose em todas as idades. No entanto os marcadores de neuroapoptose aumentaram de forma significativa nas idades mais jovens (122 semanas e dia 5 pós-natal) [64]. A exposição isolada à ketamina por 5, 9 ou 24h cursa com apoptose marcada no córtex frontal de macacos dia 5 pós-natal, no entanto a exposição por 3h não foi considerada tóxica [64; 66]. Uma equipa de investigadores demonstrou que a exposição de macacos no dia 120 pós-natal a 5h de isoflurano estava associada não só a apoptose dos neurónios como também apoptose de oligodendrócitos após 3h de exposição [77]. Com o propofol também foi observada apoptose dos oligodendrócitos para além dos neurónios, no entanto com magnitude inferior à do isoflurano [78]. Outros estudos confirmam a associação da ketamina [66; 79] e do isoflurano [80] à neuroapoptose nos macacos jovens. Um estudo de 2010 demonstrou apoptose no cérebro de macacos no período neonatal com exposição de 5h ao isoflurano em doses semelhantes às usadas nos humanos (0,7% - 1.5%), afetando predominantemente o córtex frontal, temporal e area visual primária [80].

Tal como acontecia com os ratos os danos cerebrais são superiores aquando da exposição a combinações anestésicas [81].

5.2 EVIDÊNCIA DAS ALTERAÇÕES COGNITIVAS

A par das alterações histológicas, alguns estudos demonstram existir também alterações do comportamento e funções cognitivas dos animais expostos à anestesia geral. O estudo de Jevtovic-Todorovic realizado em 2003 relata défices persistentes de memória e aprendizagem associado a um padrão de neuroapoptose extensa em múltiplas regiões [71], sendo esses défices mais notórios no período da pré-adolescência (dia 32 pós-natal), mas persistindo pela idade adulta (dia 31 pós-natal) [71]. Contudo, não

foram encontradas alterações na atenção, atividade motora ou sensitiva. Anos depois, um estudo avaliou o efeito da ketamina e diazepam de forma isolada e em associação em ratos no dia 10 pós-natal [82]. Ao dia 11 pós-natal apenas os cérebros dos ratos expostos à ketamina mostravam neurodegeneração massiva no córtex parietal, sendo que a resposta foi ainda mais marcada aquando da combinação dos dois agentes. Aos 2 meses os grupos foram avaliados quanto à atividade motora e performance cognitiva, sendo relatados défices cognitivos severos no grupo exposto à ketamina isoladamente ou em associação com diazepam. O mesmo grupo de investigadores documentou perturbações da aprendizagem na idade adulta em ratos expostos a ketamina no período neonatal e perturbações do comportamento com disrupção da atividade espontânea e aprendizagem quando expostos à ketamina, propofol e tiopental em associação [83].

Em 2009, um estudo comparou os efeitos neurotóxicos do propofol e sevoflurano e concluiu que a exposição ao propofol por aproximadamente 4.5h estava associada a neurodegeneração em ratos recém-nascidos com consequente desenvolvimento de défices de aprendizagem a longo prazo, enquanto que a exposição ao sevoflurano não foi associada a alterações histológicas ou défices de aprendizagem [84]. No entanto, outros estudos associam o sevoflurano a disfunção neurocognitiva a longo prazo com défices na memória de longa duração e anormalidades da interação social [86; 86].

Também em 2009, outro estudo avaliou os efeitos da exposição ao isoflurano em ratos nos dias 7 e 60 pós-natal. No primeiro grupo verificou-se um aumento da neuroapoptose com défices cognitivos detetados aos 8 meses, enquanto que no segundo grupo etário verificou-se proliferação neuronal, ausência de défices cognitivos bem como melhoria da memória espacial aos 8 meses [84]. Um estudo semelhante foi realizado em 2010 com resultados concordantes ao anterior, verificando-se diminuição da neurogénese e do número de células progenitoras no hipocampo com comprometimento da memória nos ratos jovens (dia 14 pós-natal) expostos ao isoflurano [87].

De modo geral os estudos sugerem que a anestesia geral não induz alterações na função motora nem do processamento nociceptivo a longo prazo, cursando no entanto com lesões no hipocampo e córtex frontal associadas a alterações da memória.

6 EVIDÊNCIA DA NEUROTOXICIDADE ANESTÉSICA IN POPULO

6.1 ESTUDOS RETROSPETIVOS

Os estudos sobre a neurotoxicidade anestésica na população infantil são relativamente recentes, sendo que até 2007 não havia qualquer pesquisa direcionada especificamente ao tema. Desde essa data têm sido publicados uma série de estudos retrospectivos cujos resultados parecem ainda ser discordantes.

O primeiro estudo publicado por Kalkman e colaboradores [88] consistiu numa análise do comportamento nas crianças submetidas a cirurgia urológica antes dos 2 anos, usando a *Child Behavior Checklist* (CBCL) [89]. Os resultados obtidos sugeriram haver um risco aumentado de desenvolver distúrbios comportamentais no grupo exposto à anestesia geral e cirurgia antes dos 2 anos comparativamente ao grupo não exposto. No entanto, dado o tamanho insuficiente da amostra, os resultados não foram considerados estatisticamente significativos, tendo funcionado apenas como um estudo piloto.

Em 2009, Sprung e colaboradores [90] estudaram um coorte de 5320 crianças de *Olmstead County* de forma a determinar os efeitos cognitivos da exposição fetal à anestesia geral durante o trabalho de parto. As conclusões do estudo revelaram que os fetos expostos à anestesia durante a cesariana não apresentaram risco superior de desenvolver dificuldades de aprendizagem comparativamente às crianças sem exposição nascidas por parto eutócico, sugerindo que uma exposição pré-natal à anestesia geral não cursa com défices cognitivos a longo prazo. Por sua vez, Wilder e colaboradores [91] examinaram os efeitos da exposição pós-natal à anestesia geral e demonstraram que os distúrbios da linguagem (matemática, linguagem e leitura) foram superiores nas crianças com múltiplas exposições à anestesia geral e cirurgia antes dos 4 anos. Relativamente ao tempo de exposição anestésica, o risco foi inferior na exposição inferior a 30 minutos comparada com uma exposição superior a 120 minutos (0.93 vs 1.65). Em ambos os estudos, os resultados foram ajustados para a idade, género, peso ao nascimento e educação materna, variantes potencialmente confundidoras na avaliação da função cognitiva.

No mesmo ano, DiMaggio e colaboradores [92] utilizaram a população de *New York State* para estudar a relação entre a exposição à anestesia geral durante a hernioplastia inguinal antes dos 3 anos e o desenvolvimento de distúrbios do

comportamento/desenvolvimento, nomeadamente atraso inespecífico ou doença comportamental, atraso mental, perturbações do espectro do autismo (PEA) e distúrbios do discurso/linguagem. O grupo exposto apresentou um risco 2.3 vezes superior de desenvolver qualquer um dos distúrbios acima referidos. Dois anos mais tarde, utilizando a mesma população, a mesma equipa de investigação demonstrou um risco 60% superior de desenvolver distúrbios do comportamento/desenvolvimento nas crianças com múltiplas exposições anestésicas [93]. No entanto, muito recentemente foi publicado um estudo a demonstrar que a exposição à anestesia geral e cirurgia antes dos 2 anos bem como o número de exposições não está associado a aumento do risco de desenvolver PEA [94].

Em 2011, Flick e colaboradores [95] compararam um grupo de 350 crianças expostas à anestesia geral antes dos 2 anos com um grupo de controlo sem exposição acompanhados até aos 19 anos. O *outcome* cognitivo avaliado consistiu nas dificuldades de aprendizagem, necessidade de *Individualized Educational Programs* (IEP) e pelos resultados obtivos nos testes de cognição e desempenho. Os IEP foram divididos em *Emotional Behavioral Disorders* (IEP-EBD) e *Speech and language impairments* (IEP-SL). A análise dos resultados revelou risco aumentado de desenvolver distúrbios da aprendizagem no grupo com história de exposição múltipla, com necessidade mais frequente de integração em IEP-SL. Contudo não foi demonstrado aumento da necessidade de integração de IEP-EBD.

Em 2012, novamente Sprung e colaboradores [96] estudaram a relação da exposição à anestesia geral antes dos 2 anos e o desenvolvimento de transtorno de défice de atenção e hiperatividade (TDAH), demonstrando aumento do risco de TDAH aquando da exposição múltipla à anestesia antes dos 2 anos. No mesmo ano, na Austrália, Ing e colaboradores [97] analisaram 2868 crianças, das quais 321 tinham história de exposição anestésica antes dos 3 anos. Todas as crianças foram acompanhadas até aos 10 anos e submetidas a uma avaliação da linguagem, comportamento, função cognitiva e motora através de realização de testes neuropsicológicos específicos. A função cognitiva foi avaliada pelo *Symbol Digit Modality Teste* (SDMT) [98] que avalia a função visual, a atenção, capacidade motora, linguagem oral e escrita e pela *Raven's Colored Progressive Matrices* (CPM) [99] que avalia a performance cognitiva global, inteligência não-verbal e as funções especial/visual. A *McCarron Assessment of Neuromuscular Development* (MAND) [100] foi usada para avaliar a motricidade fina e grosseira. A linguagem foi avaliada pela *Clinical Evaluation of Language Fundamentals* (CELF) [101]. As alterações de comportamento foram avaliadas pela CBCL [89]. O grupo exposto apresentou risco superior de desenvolver défices de

linguagem e raciocínio abstrato a longo prazo, independente do número de exposições. Não foi encontrada evidência de diferenças na função visual, atenção, comportamento e motricidade fina e grosseira as avaliações da linguagem, sugerindo os domínios cognitivos não são afetados de forma uniforme.

Mais recentemente, a mesma equipa de investigadores apresentou um novo estudo [102] em que a avaliação cognitiva foi realizada de forma criteriosa baseada em três indicadores: testes neuropsicológicos diretos (CELF e CPM), *International Classification of Diseases, 9th Revision* (ICD-9) e desempenho académico avaliado por testes específicos Western Australian Monitoring Standards in Education (WAMSE). O estudo incluiu uma amostra de 781 crianças, das quais 112 foram expostas à anestesia geral antes dos 3 anos, com um período de *follow-up* de 10 anos. A incidência de distúrbios de linguagem e cognição codificadas por ICD-9 e défices de linguagem avaliados pela CELF foi significativamente superior no grupo exposto (41.6% vs 23.6%; 13.7% vs 6.1%). No entanto, as diferenças relativas à avaliação do desempenho académico pela WAMSE não foram significativas.

Outros estudos europeus parecem não encontrar evidência da neurotoxicidade anestésica infantil. Na Holanda, em 2009, Bartels e colaboradores [103] falharam em mostrar qualquer efeito da exposição da anestesia geral na função cognitiva a longo prazo. Para isso estudaram uma amostra de 1143 pares de gémeos homozigóticos divididos em 3 grupos: expostos, não expostos e discordantes (em que um foi exposto e o outro não). O estudo não encontrou qualquer relação causal entre a exposição anestésica em crianças com idade inferior a 3 anos e a performance cognitiva avaliada aos 12 anos.

Em 2011, Hansen e colaboradores [104] compararam o desempenho académico de todas as crianças submetidas a hernioplastia inguinal com anestesia geral na infância com uma amostra emparelhada randomizada da população geral, não demonstrando diferenças significativas entre o grupo exposto/não exposto. Dois anos mais tarde, a mesma equipa comparou as notas obtidas nos testes do 9º ano de escolaridade em crianças submetidas a cirurgia com anestesia geral antes dos 3 meses com um grupo de crianças sem exposição, não encontrando diferenças significativas [105].

6.2 ESTUDOS EM CURSO

De momento, existem três estudos de larga escala em diferentes fases de progressão. O estudo PANDA (*Pediatric Anesthesia and neurodevelopment Assessment*) [106] é um estudo multicêntrico que pretende avaliar os efeitos da anestesia geral a

longo prazo na função cognitiva de crianças expostas a anestesia geral para hernioplastia inguinal antes dos 36 meses. Para esse efeito, o estudo compara 500 pares de irmãos com idades compreendidas entre os 8-15 anos em que apenas um dos irmãos é exposto à anestesia geral [7]. O estudo GAS (*General Anesthesia and Spinal*) é um ensaio clínico randomizado multicêntrico que compara os efeitos da anestesia geral com sevoflurano e da anestesia regional com bupivacaina no neurodesenvolvimento de crianças submetidas a hernioplastia inguinal antes dos 6 meses. O estudo inclui uma amostra de cerca de 700 crianças e o período de *follow-up* será de 5 anos, sendo expectável estar terminado em 2017 [7]. O estudo MASK (*Mayo Anesthesia Safety in Kids*) pretende comparar a função cognitiva avaliada por um conjunto de testes neurocognitivos, de um grupo de crianças com uma ou mais exposições anestésicas antes dos 3 anos com um grupo controlo sem exposição. Dos resultados destes estudos que começarão a surgir pelo ano de 2016, é esperado que sejam capazes de elucidar a comunidade científica acerca da relação causal entre anestesia e neurotoxicidade.

7 DISCUSSÃO

7.1 LIMITAÇÃO DOS ESTUDOS *IN VIVO*

Os resultados dos estudos *in vivo* levantam uma preocupação alarmante sobre os riscos da exposição à anestesia geral durante a fase de excelência para o desenvolvimento cerebral. No entanto, a extrapolação destes resultados para a população humana pediátrica apresenta limitações relevantes desde a heterogeneidade dos períodos de susceptibilidade cerebral até à diferença da vulnerabilidade cerebral entre as várias espécies. O cérebro humano apresenta uma plasticidade única potencialmente capaz de se adaptar à lesão apoptótica sem manifestar qualquer alteração clínica da função cognitiva. A própria avaliação da função cognitiva dos animais e seu paralelismo com a dos humanos representa uma área de translação incerta. A dificuldade do controlo de parâmetros fisiológicos durante o procedimento nos animais pode estar associada a alterações metabólicas sustentadas com indução de neuroapoptose, podendo também enviesar os resultados. Outra diferença importante a considerar é a ausência de estímulo doloroso durante a exposição à anestesia geral nos animais. Um estudo recente realizado em ratos, demonstrou que a exposição à ketamina concomitante a estimulação dolorosa resulta em atenuação da resposta neuroapoptótica [106]. Estes resultados sugerem que o estudo dos efeitos da anestesia geral na ausência de um estímulo doloroso pode sobrestimar o potencial tóxico dos anestésicos.

7.2 LIMITAÇÃO DOS ESTUDOS *IN POPULO*

Os estudos realizados até à data apresentam uma série de limitações que são comuns a quase todos, nomeadamente a ausência do controlo adequado das variantes confundidoras, ausência da especificação do tipo de anestesia utilizada (agente, dose e duração) e a heterogeneidade das medidas utilizadas para avaliação do *outcome*. A falta de homogeneidade e especificidade dos parâmetros de avaliação cognitiva pode contribuir de forma importante para a disparidade dos resultados e enviesamento dos mesmos. Apesar da vasta gama de testes disponíveis, persiste ainda uma grande dificuldade na interpretação das informações relacionadas à avaliação do funções cognitivas visto que são dependentes de outros de fatores inter-relacionados difíceis de controlar como os fatores genéticos, sócio-culturais e ambientais, processos de desenvolvimento e maturação. Seria importante conseguir a standardização dos critérios de avaliação com realização de testes neuropsicológicos específicos baseados em

tabelas validadas, de modo a obtermos resultados menos enviesados e com maior sensibilidade para deteção de défices cognitivos subtis que seriam difíceis de diagnosticar clinicamente. Outras questões estão ainda por esclarecer nomeadamente a definição de *outcome* neurológico adverso e quais as idades em que as disfunções cognitivas se podem manifestar. É importante considerar que a maturação neuronal ocorre em diferentes janelas temporais dependentes de cada região cerebral, característica, o que pode determinar períodos de suscetibilidade diferentes para funções cognitivas distintas.

Neste tipo de estudos é claramente difícil controlar todos os fatores potencialmente confundidores desde a resposta inflamatória sistémica ativada em resposta ao trauma cirúrgico, o grau de morbilidade pré-cirúrgico e o tipo de cirurgia, as comorbilidades associadas, a pré-disposição genética e os desequilíbrios homeostáticos associados ao próprio processo anestésico [107]. Para além disso, os estudos são realizados com base em amostras muito homogéneas que podem não representar uma amostra compatível com a população real.

7.3 AGENTES INALATÓRIOS VS INTRAVENOSOS

O uso dos anestésicos gerais inalatórios tem dominado a anestesia geral na idade pediátrica. No entanto, as vantagens dos anestésicos intravenosos têm conduzido ao seu uso mais frequente e à mudança da prática clínica. De entre as vantagens dos agentes intravenosos destacam-se a a redução das náuseas e vômitos no pós-operatório, redução da reatividade da via aérea e do delírio pós-operatório, redução da dor e amnésia e neuroproteção [108]. No que diz respeito à neuroproteção, foi demonstrado em estudos animais que o propofol reduz significativamente o aumento do lactato desidrogenase mediado pela hipóxia, diminui os sinais de lesão celular e aumenta a neurogénese [109-113].

A cirurgia e a exposição à anestesia geral são muitas das vezes um evento extremamente assustador e stressante para a criança, estando frequentemente associados a *negative postoperative behavioral changes* (NPOBCs) nomeadamente ansiedade, distúrbios do sono e da alimentação, enurese, birras, medo do escuro e desobediência. Quando estes comportamentos persistem por um período prolongado, podem interferir de forma significativa com o desenvolvimento cognitivo e emocional da criança a longo prazo. Um estudo publicado em 2015, revela uma prevalência de NPOBCs de 80% em crianças entre os 6-12 anos submetidas a adenotonsilectomia eletiva [114]. A escolha da técnica anestésica teve influência na incidência e no tipo de NPOBCs. A anestesia com sevoflurano/protóxido de azoto foi associada a NPOBCs mais

frequente e prolongada comparativamente a qualquer outro anestésico intravenoso, especificamente no que diz respeito à ansiedade da separação e escalas de apatia [114].

Em 2012, Zvi Jacob M.D e colaboradores [115], realizaram um estudo randomizado prospetivo em que documentaram diferenças no estado metabólico cerebral de crianças expostas a anestesia geral com sevoflorano e propofol. Nas crianças expostas ao sevoflurano verificaram-se concentrações superiores de concentrações de glicose, lactato e proteína Tau no córtex parietal, comparativamente às expostas ao propofol. Nas crianças expostas ao sevoflurano foi observado delírio pós-anestesia com maior frequência, sugerindo as altas concentrações de glucose e lactato possam estar correlacionadas com uma maior propensão para o delírio.

7.4 OS EXTREMOS DE IDADE E A VULNERABILIDADE À NEUROTOXICIDADE

As pesquisas recentes têm justificado uma preocupação acrescida relativamente aos potenciais efeitos neurotóxicos da anestesia geral nomeadamente nos extremos de idade por serem considerados cérebros mais vulneráveis. Os agentes anestésicos podem também ser nocivos para o cérebro idoso ao despoletar ou exacerbar vias de algumas doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer. Durante o envelhecimento cerebral, a velocidade da neurogenése e sinaptogénese diminui, assim como o número de neurónios. Este processo cursa com perda gradual da reserva neuronal e aumento da vulnerabilidade cerebral às agressões externas. As teorias atuais defendem vários fatores indutores da disfunção cognitiva pós-operatória no idoso relacionados com a anestesia geral, nomeadamente os efeitos tóxicos diretos resultantes das alterações da homeostasia do Ca^{2+} [116], a resposta inflamatória sistémica secundária à agressão cirurgica [117], supressão da função das *neuronal stem cells* [118] e aceleração dos processos neurodegenerativos endógenos [119]. Alguns estudos referentes à Doença de Alzheimer têm demonstrado que a hiperfosforilação anormal da proteína Tau e a sua agregação, fazem parte dos processos envolvidos na neurodegeneração associada à patologia [120-122]. De facto, existem estudos a sugerir que a anestesia geral está associada a maior risco de disfunção cognitiva e Doença de Alzheimer [121-123].

A par destes resultados, pesquisas recentes em modelos animais demonstraram que a anestesia pode induzir anormalidades transitórias e reversíveis da proteína Tau, sendo esse efeito independente do tipo de anestesia utilizado [124; 125]. Os dados atuais fazem sugerir a hiperfosforilação da proteína Tau como um mecanismo possível a

ligar a anestesia geral à Doença de Alzheimer e ao risco de disfunção cognitiva nos idosos.

8 CONCLUSÃO

O uso crescente da anestesia geral em crianças e recém-nascidos torna este tema um assunto de saúde pública com preocupações crescentes, aumentando a necessidade de realização de pesquisas mais aprofundadas de modo a determinar de forma mais exata o impacto que estes achados poderão ter na prática clínica da anestesia pediátrica. Por motivos éticos óbvios é difícil desenhar um estudo deste tipo e com esta complexidade em humanos. Não é legítimo expormos à anestesia geral crianças sem indicação ou randomizarmos grupos de crianças com e sem anestesia durante a realização de procedimentos dolorosos invasivos. No entanto, de acordo com a evidência existente em estudos animais torna-se cada vez mais importante aprofundar o conhecimento sobre o efeito dos anestésicos gerais no cérebro em desenvolvimento, quais os mecanismos de neurotoxicidade e quais as estratégias possíveis para minimizar os potenciais danos.

Até à data, os estudos *in populo* são ainda algo inconsistentes para podermos fazer recomendações específicas ou mudanças na prática clínica da anestesia pediátrica. Uma grande parte dos estudos mostra uma associação aparente entre a exposição à anestesia geral em idade jovem e o risco de disfunção cognitiva, mas não suportam conclusões a afirmar uma relação causal evidente. Portanto, até evidência em contrário, recomenda-se reduzir as intervenções cirúrgicas e anestesia geral ao mínimo necessário, utilizando de preferência agentes de curta duração de ação, e a combinação da anestesia geral com terapias analgésicas multimodais incluindo analgesia sistêmica, anestesia regional e local, de forma a reduzir a dose total de fármacos. Os parâmetros fisiológicos devem ser controlados de forma criteriosa durante o procedimento, de forma a evitar oscilações profundas que possam ter consequências negativas no neurodesenvolvimento.

É importante não esquecer que por vezes a cirurgia é a única forma de salvar vidas e a anestesia geral é um procedimento que não se pode evitar, sendo que os riscos da neurotoxicidade anestésica devem ser balanceados com os riscos potenciais de adiar uma cirurgia.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brown EN, Lydic R, Schiff ND. General Anesthesia, Sleep, and Coma. *N Engl J Med*. 2010; 363: 2638–2650.
2. Dekaban AS. Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights. *Ann Neurol*. 1978; 4: 345–56.
3. Dobbing J, Sands J. Comparative aspects of the brain growth suport. *Early Hum Dev* 1979; 3:79–83.
4. Sinner B, Becke K, Engelhard K. General Anesthetics on the developing brain: an overview. *Anaesthesia*. 2014; 69: 1009–1022.
5. Cowan WM. The development of the brain. *Scientific American*. 1979; 241: 113-33.
6. Squire L, Berg D, Bloom F, Lac S, Ghosh A, Spitzer N. *Fundamental Neurosciense*. 3. ed. Canadá: Elsevier; 2008.
7. Hernández-Muela S, Mulas F, Mattos L. Plasticidad Neuronal Funcional. *Rev. Neurol*. 2004; 38: 58-68.
8. Sun L. Early childhood general anaesthesia exposure and neurocognitive development. *British Journal of Anaesthesia*. 2010; 105: 61–68.
9. Raff MC, Barres BA, Burne JF et al. Programmed cell death and the control of cell survival: lessons from the nervous system. *Science*. 1993; 262: 695–700.
10. Oppenheim RW. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci*. 1991; 14: 453–501.
11. Nijhawan D, Honarpour N, Wang X. Apoptosis in neural development and disease. *Annu Rev Neurosci*. 2000; 23: 73–87.
12. Rakic S, Zecevic N. Programmed cell death in the developing human telencephalon. *Eur J Neurosci*. 2000; 12: 2721–34.
13. Nguyen L, Rigo JM, Rocher V, Belachew S, Malgrange B, Rogister B et al. Neurotransmitters as early signals for central nervous development. *Cell and Tissue Research*. 2001; 305: 187-202.
14. Haydar TF, Wang F, Schwartz ML, Rakic P. Differential modulation of proliferation in the neocortical ventricular and subventricular zones. *J Neurosci*. 2000; 20: 5764–5774.
15. Wang C, Pralong WF, Schulz MF et al. Functional *N*-methyl-D-aspartate receptors in O2A glial precursor cells: a critical role in regulating polysialic acid-neural cell adhesion molecule expression and cell migration. *J Cell Biol*. 1996; 135: 1565–1581.

16. Herlenius E, Lagercrantz H. Development of neurotransmitter systems during critical periods. *Experimental Neurology*. 2004; 190: 8-21.
17. Aruffo C, Ferszt R, Hildebrandt AG, Cervos-Navarro J. Low doses of L-monosodium glutamate promote neuronal growth and differentiation in vitro. *Dev Neurosci*. 1987; 9: 228–239.
18. Scheetz AJ, Constantine-Paton M. Modulation of NMDA receptor function: implications for vertebrate neural development. *Faseb J*. 1994; 8: 745–752.
19. Hudson AE, Hemmings HC. Are anaesthetics toxic to the brain? *British Journal of Anaesthesia*. 2011; 107: 30–7.
20. Behar TN, Schaffner AE, Colton CA. et al. GABA-induced chemokinesis and NGF-induced chemotaxis of embryonic spinal cord neurons. *J Neurosci* 1994; 14:29–38.
21. Behar TN, Li YX, Tran HT, Ma W, Dunlap V, Scot C, Barker JL. GABA stimulates chemotaxis and chemokinesis of embryonic cortical neurons via calcium-dependent mechanisms. *J Neurosci*. 1996; 16: 1808–1818.
22. Behar TN, Schaffner AE, Scott CA, Greene CL, Barker JL. GABA receptor antagonists modulate postmitotic cell migration in slice cultures of embryonic rat cortex. *Cereb Cortex*. 2000; 10: 899–909.
23. Barbin G, Pollard H, Gaiarsa JL, Ben-Ari Y. Involvement of GABA_A receptors in the outgrowth of cultured hippocampal neurons. *Neurosci Lett*. 1993; 152: 150–154.
24. Henriques TC; Soares-Fortunato JM; Leite-Moreira AF. Sinaptogénese: do cone de crescimento à sinapse neuromuscular. *Revista Portuguesa de Psicossomática*. 2001; 3: 95-121.
25. Alkire MT, Hudetz AG, Tononi G. Consciousness and anesthesia. *Science*. 2008; 322: 876–80.
26. Angel A. The G.L. Brown lecture. Adventures in anaesthesia. *Exp Physiol*. 1991; 76: 1–38.
27. Alkire MT, Haier RJ, Barker SJ, Shah NK, Wu JC, Kao YJ. Cerebral metabolism during propofol anesthesia in humans studied with positron emission tomography. *Anesthesiology*. 1995; 82: 393– 403.
28. Fiset P, Paus T, Daloze T, et al. Brain mechanisms of propofol-induced loss of consciousness in humans: a positron emission tomographic study. *J Neurosci*. 1999; 19: 5506–13.
29. Purdon PL, Pierce ET, Bonmassar G, Walsh JP, Harrell G, Kwo J. et al. Simultaneous electroencephalography and functional magnetic resonance imaging of general anesthesia. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1157: 61–70.

30. Velly LJ, Rey MF, Bruder NJ. et al. Differential dynamic of action on cortical and subcortical structures of anesthetic agents during induction of anesthesia. *Anesthesiology*. 2007; 107: 202–12.
31. Ferrarelli F, Massimini M, Sarasso S. et al. Breakdown in cortical effective connectivity during midazolam-induced loss of consciousness. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107: 2681–6.
32. Forman SA, Chin VA. General Anesthetics and molecular mechanisms of Unconsciousness. *International Anesthesiology Clinics*. 2008; 46: 43-53.
33. Mashour GA, Forman SA, Campagna JA. Mechanisms of general anesthesia: from molecules to mind. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2005; 19: 349–364.
34. Thompson SA, Wafford K. Mechanism of action of general anaesthetics – new information from molecular. *Current Opinion in Pharmacology*. 2001; 1: 78–83.
35. Franks NP. General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal. *Nat Rev Neurosci*. 2008; 9: 37-86.
36. Belelli D, Pistis M, Peters JA, Lambert JJ. General anaesthetic action at transmitter-gated inhibitory amino acid receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 496-502.
37. Hemmings HC Jr., Akabas MH, Goldstein PA, Trudell JR, Orser BA, Harrison NL. Emerging molecular mechanisms of general anesthetic action. *Trends Pharmacol Sci* 2005; 26: 503–10.
38. Robinson RB, Siegelbaum SA. Hyperpolarization- activated cation currents: from molecules to physiological function. *Annu. Rev. Physiol*. 2003; 65: 453–480.
39. Patel AJ, Honore E. Anesthetic-sensitive 2P domain KC channels. *Anesthesiology*. 2001; 95: 1013–1021.
40. Orser BA, Canning KJ, MacDonald JF. Mechanisms of general anesthesia. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2002; 15: 427-433.
41. Akeju O, Pavone KJ, Westover B, Vazquez R, Prerau MJ, Harrel PG. et al. A Comparison of Propofol- and Dexmedetomidine induced Electroencephalogram Dynamics Using Spectral and Coherence Analysis. *Anesthesiology*. 2014; 121: 00-00.
42. Lu J, Nelson LE, Franks N, Maze M, Chamberlin NL, Saper CB. Role of endogenous sleep-wake and analgesic systems in anesthesia. *J. Comp. Neurol*. 2008; 508: 648–662.
43. Langsjö JW, Maksimow A, Salmi E, Kaisti K, Aalto S, Oikonen V. et al. S-ketamine anesthesia increases cerebral blood flow in excess of the metabolic needs in humans. *Anesthesiology*. 2005; 103: 258–268.

44. Maksimow A, Särkelä M, Langsjö JW, Salmi E, Kaisti KK, Yli-Hankala A. et al. Increase in high frequency EEG activity explains the poor performance of EEG spectral entropy monitor during S-ketamine anesthesia. *Clin. Neurophysiol.* 2006; 117: 1660–1668.
45. Blain-Moraes S, Lee U, Ku S, Noh GJ, Mashour G. Electroencephalographic effects of ketamine on power, cross-frequency coupling, and connectivity in the alpha bandwidth. *Frontiers in Systems Neuroscience.* 2014; 8:
46. Lee H, Mashour GA, Noh GJ, Kim S, Lee U. Reconfiguration of network hub structure after propofol-induced unconsciousness. *Anesthesiology.* 2013; 119: 1347–1359.
47. Sanders RD, Hassell J, Davidson AJ, Robertson NJ, Ma D. Impact of anesthetics and surgery on neurodevelopment: an update. *British Journal of Anaesthesia.* 2013; 110: 53-72.
48. Miller RD, Eriksson LI, Fleisher LA, Wiener-Kronish JP, Cohen NH, Young WI. *Miller's Anesthesia.* 8. ed. Elsevier Health Sciences. 2014; 329-345.
49. 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: 815–27.
50. Zhang Y, Dong Y, Wu X, Lu Y, Xu Z, Knapp A. et al. The mitochondrial pathway of anesthetic isoflurane-induced apoptosis. *J. Bio. Chem.* 2010; 285: 4025–4037.
51. Sanchez V, Feinstein SD, Lunardi N, Joksovic PM, Boscolo A, Todorovic SM. Et al. General anesthesia causes long-term impairment of mitochondrial morphogenesis and synaptic transmission in developing rat brain. *Anesthesiology.* 2011; 115: 992–1002.
52. Zhang Y, Xu Z, Wang H, Dong Y, Shi HN, Culley DJ. Et al. Anesthetics isoflurane and desflurane differently affect mitochondrial function, learning, and memory. *Ann. Neurol.* 2012.
53. Wei H. The Role of Calcium Dysregulation in Anesthetic-Mediated Neurotoxicity. *International Anesthesia Research Society.* 2011; 113.
54. Lee R, Kermani P, Teng KK, Hempstead BL. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science.* 2001; 294: 1945–1948.
55. Lu B. Pro-region of neurotrophins: Role in synaptic modulation. *Neuron.* 2003; 39: 735–738.
56. Pear ML, Hu Y, Niesman IR, Patel HH, Drummond JC, Roth DM. et al. Propofol Neurotoxicity Is Mediated by p75 Neurotrophin Receptor Activation. *Anesthesiology.* 2012; 116: 352–361.
57. Head BP, Patel HH, Niesman IR, Drummond JC, Roth DM, Patel PM. Inhibition of

- p75 neurotrophin receptor attenuates isoflurane-mediated neuronal apoptosis in the neonatal central nervous system. *Anesthesiology*. 2009; 110: 813–825.
58. Lemkuil BP, Head BP, Pearn ML, Patel HH, Drummond JC, Patel PM. Isoflurane neurotoxicity is mediated by p75NTR-RhoA activation and actin depolymerization. *Anesthesiology*. 2011; 114: 49–57.
59. Stratmann G, Sal JW, May LDV, Bel JS, Magnusson KR, Rau V. et al. Isoflurane differentially affects neurogenesis and long-term neurocognitive function in 60-day-old and 7-day-old rats. *Anesthesiology*. 2009; 110: 834–848.
60. Wu X, Lu Y, Dong Y, Zhang G, Zhang Y, Xu Z. et al. The inhalation anesthetic isoflurane increases levels of proinflammatory TNF-[alpha], IL-6, and IL-1[beta]. *Neurobiol. Aging*. 2010; 33: 1364–1378.
61. Fidalgo AR, Cibelli M, White JPM, Nagy I, Maze M, Ma D. Systemic inflammation enhances surgery-induced cognitive dysfunction in mice. *Neurosci. Lett*. 2011; 498: 63–66.
62. Hayashi H, Dikkes P, Soeiano SG. Repeated administration of ketamine may lead to neuronal degeneration in the developing rat brain. *Paediatr. Anaesth*. 2002; 12: 770–774.
63. Scallet A, Schmued LC, Slikker W, Grunberg N, Faustino PJ, Davis H. et al. Developmental neurotoxicity of ketamine: Morphometric confirmation, exposure parameters, and multiple fluorescent labeling of apoptotic neurons. *Toxicol. Sci*. 2004 81: 364–370.
64. Slikker W, Zou X, Hotchkiss CE, Divine RL, Sadovova N, Twaddle NC. Et al. Ketamine-induced neuronal cell death in the perinatal rhesus monkey. *Toxicol Sci*. 2007; 98: 145–58.
65. Johnson SA, Young C, Olney JW. Isoflurane-induced neuroapoptosis in the developing brain of nonhypoglycemic mice. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*. 2008; 20: 21-8.
66. Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, Farber NB, Smith BA, Zhang X. et al. Ketamine-induced neuroapoptosis in the fetal and neonatal rhesus macaque brain. *Anesthesiology*. 2012; 116: 372–84.
67. Ikonomidou C, Bosch F, Miksa M, Bittigau P, Vockler J, Dikranian K. et al. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science*. 1999; 283: 70–74.
68. Zou X, Patterson TA, Sadovova N, Twaddle NC, Doerge DR, Zhang X. et al. Potential Neurotoxicity of ketamine in the Developing Rat Brain. *Toxicol. Sci*. 2009; 108: 149-158.
69. Jin J, Gong K, Zou X, Wang R, Lin Q, Chen J. The blockade of NMDA receptor ion

- channels by ketamine is enhanced in developing rat cortical neurons. *Neurosci. Lett.* 2013; 539: 11–15.
70. Cattano D, Young C, Straiko MM, Olney JW. Subanesthetic doses of propofol induce neuroapoptosis in the infant mouse brain. *Anesth Analg.* 2008; 106: 1712–4.
71. Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, Wozniak DF, Koch C, Genz K. et al. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science.* 2000; 287: 1056 – 60.
72. Bittigau P, Sifringer M, Genz K, Reith E, Pospischil D, Govindarajulu S. et al.. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 15089 –94.
73. Asimiadou S, Bittigau P, Felderhoff-Mueser U, Manthey D, Sifringer M, Pesditschek S. et al. Protection with estradiol in developmental models of apoptotic neurodegeneration. *Ann Neurol.* 2005; 58: 266 –76.
74. Jevtovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF. et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J Neurosci.* 2003; 23: 876–82.
75. Young C, Jevtovic-Todorovic V, Qin YQ, Tenkova T, Wang H, Labruyere J. et al. Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain. *Br J Pharmacol.* 2005; 146: 189–97.
76. Zhou ZW, Shu Y, Li M, Guo X, Pac-Soo C, Maze M. et al. The glutamatergic, GABAergic, dopaminergic but not cholinergic neurons are susceptible to anesthesia-induced cell death in the rat developing brain. *Neuroscience.* 2011; 174: 64-70.
77. Creeley CE, Dikranian KT, Back SA, Dissen GA, Olney JW, Brambrink AM. Isoflurane-induced apoptosis of neurons and oligo-dendrocytes in the fetal Rhesus macaque brain. *Anesthesiology.* 2014; 120: 626-638.
78. Creeley C, Dikranian K, Dissen G, Martin L, Olney J, Brambrink A. Propofol-induced apoptosis of neurones and oligodendrocytes in fetal and neonatal rhesus macaque brain. *British Journal of Anaesthesia.* 2013; 110: 29–38.
79. Wang C, Sadovova N, Hotchkiss C, Fu X, Scallet AC, Patterson TA. et al. Blockade of N-methyl-D- aspartate receptors by ketamine produces loss of postnatal day 3 monkey frontal cortical neurons in culture. *Toxicol. Sci.* 2006; 91: 192–201.
80. Brambrink AM, Evers AS, Avidan MS, Farber NB, Smith BA, Zhang X. et al.

- Isoflurane-induced neuroapoptosis in the neonatal rhesus macaque brain. *Anesthesiology*. 2010; 112: 834–41.
81. Zou X, Liu F, Zhang X, Patterson TA, Callicott R, Liu S. et al. Inhalation anesthetic-induced neuronal damage in the developing rhesus monkey. *Neurotoxicol Teratol*. 2011; 33: 592–7.
 82. Fredriksson A, Archer T, Alm H, Gordh T, Eriksson P. Neurofunctional deficits and potentiated apoptosis by neonatal NMDA antagonist administration. *Behav Brain Res*. 2004; 153: 367–76.
 83. Fredriksson A, Ponten E, Gordh T, Eriksson P. Neonatal exposure to a combination of N-methyl-d-aspartate and gamma-aminobutyric acid type a receptor anesthetic agents potentiates apoptotic neurodegeneration and persistent behavioral deficits. *Anesthesiology*. 2007; 107: 427–36.
 84. Bercker S, Bert B, Bittigau P, Felderhoff-Müser U, Bühner C, Ikonomidou C. et al. Neurodegeneration in newborn rats following propofol and sevoflurane anesthesia. *Neurotox Res*. 2009; 16: 140–7.
 85. Lu Y, Wu X, Dong Y, Xu Z, Zhang Y, Xie Z. Anesthetic sevoflurane causes neurotoxicity differently in neonatal naïve and alzheimer’s disease transgenic mice. *Anesthesiology*. 2010; 112: 1404–1416.
 86. Satomoto M, Satoh Y, Terui K, Miyao H, Takishima K, Ito M. et al. Neonatal exposure to sevoflurane induces abnormal social behaviors and deficits in fear conditioning in mice. *Anesthesiology*. 2009; 110: 628–37.
 87. Zhu C, Gao J, Karlsson N, Li Q, Zhang Y, Huang Z. et al. 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; 30: 1017–1030.
 88. Kalkman CJ, Peelen L, Moons KG, Veenhuizen M, Bruens M, Sinnema G. et al. Behavior and development in children and age at the time of first anesthetic exposure. *Anesthesiology*. 2009; 110: 805–812.
 89. Achenbach T. *Manual for the Child Behavior Checklist*. Burlington, VT: University of Vermont Department of Psychiatry; 1991.
 90. Sprung J, Flick R, Wilder R, Katusic SK, Pike TL, Dingli M. et al. Anesthesia for Cesarean Delivery and Learning Disabilities in a Population-based Birth Cohort. *Anesthesiology*. 2009; 111: 302–10.
 91. Wilder RT, Flick RP, Sprung J, Katusic S, Barbaresi WJ, Mickelson C. et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology*. 2009; 110: 796–804.

92. 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. Anesthesiology*. 2009; 21: 286–291.
93. DiMaggio C, Sun LS, Li G. Early childhood exposure to anesthesia and risk of developmental and behavioral disorders in a sibling birth cohort. *Anesthesiology. Analg.* 2011; 113: 1143–1151.
94. Ko WR, Huang JY, Chiang YC, Nfor ON, Ko PC, Jan SR. et al. Risk of autistic disorder after exposure to general anaesthesia and surgery - A nationwide, retrospective matched cohort study. *Eur J Anaesthesiol.* 2015; 32: 303–310.
95. Flick RP, Katusic SK, Colligan RC, Wilder RT, Voigt RG, Olson MD. et al. Cognitive and behavioral outcomes after early exposure to anesthesia and surgery. *Pediatrics*. 2011; 128: 1053–1061.
96. Sprung J, Flick RP, Katusic SK, Colligan RC, Barbaresi WJ, Bojanić K. et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder after early exposure to procedures requiring general anesthesia. *Mayo Clin Proc.* 2012; 87: 120–9.
97. Ing C, DiMaggio C, Whitehouse A, Hegarty MK, Brady J, Ungern- Sternberg BS. et al. Long-term Differences in Language and Cognitive Function After Childhood Exposure to Anesthesia. *Pediatrics*. 2012; 130: 476–485.
98. Smith A. Symbol Digit Modalities Test. Los Angeles, CA: Western Psychological Services; 1973.
99. Raven J, Court J, Raven J. Manual for Raven's Progressive Matrices and Vocabulary Scales-section 2: Coloured Progressive Matrices. Oxford, United Kingdom: Oxford Psychologists Press; 1990.
100. McCarron Assessment of Neuromuscular Development: Fine and Gross Motor Abilities. Dallas, TX: Common Market Press; 1997.
101. Semel E, Wiig E, Secord W. Clinical Evaluation of Language Fundamentals. 3. ed. San Antonio, TX: Psychological Corporation Harcourt Brace Co; 1995.
102. Ing CH, DiMaggio JC, Malacova E, Withehouse AJ, Hegarty MK, Feng T. et al. Comparative Analysis of Outcome Measures Used in Examining Neurodevelopmental Effects of Early Childhood Anesthesia Exposure. *Anesthesiology*. 2014; 120: 1319-32.
103. Bartels M, Althoff RR, Boomsma DI. Anesthesia and cognitive performance in children: No evidence for a causal relationship. *Twin Res. Hum. Genet.* 2009; 1
104. Hansen TG, Pedersen JK, Henneberg, SW, Pedersen DA, Murray JC, Morton NS. et al. Academic performance in adolescence after inguinal hernia

- repair in infancy: A nationwide cohort study. *Anesthesiology*. 2011; 114: 1076–1085.2: 246–253.
105. Hansen TG, Pedersen JK, Henneberg SW, Morton NS, Christensen K. Educational outcome in adolescence following pyloric stenosis repair before 3 months of age: A nationwide cohort study. *Pediatr. Anesth*. 2013. 23: 883–890.
 106. Liu JR, Liu Q, Li J, Baek C, Han XH, Athiraman C. et al. Noxious stimulation attenuates ketamine-induced neuroapoptosis in the developing rat brain. *Anesthesiology*. 2012; 117: 64–71.
 107. McCann ME, Soriano SG. General anesthetics in pediatric anesthesia: Influences on the developing brain. *Curr Drug Targets*. 2012; 13: 944–951.
 108. Lauder GR. Total intravenous anesthesia will supercede inhalational anesthesia in pediatric anesthesica practice. *Pediatric Anesthesia*. 2014; 1155-5645.
 109. Ergun R, Akdemir G, Sen S, Tacsı A, Ergungor C. Neuro-protective effects of propofol following global cerebral ischemia in rats. *Neurosurg Rev*. 2002; 25: 95–98.
 110. Bayona NA, Gelb AW, Jiang Z, Urquhart BL, Cechetto DF. Propofol neuroprotection in cerebral ischemia and its effects on low-molecular-weight antioxidants and skilled motor tasks. *Anesthesiology*. 2004; 100: 1151–1159.
 111. Engelhard K, Werner C, Eberspächer E, Pape M, Stegemann U, Kellermann K. et al. Influence of propofol on neuronal damage and apoptotic factors after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats: a long-term observation. *Anesthesiology* 2004; 101: 912–917.
 112. Rossaint J, Rossaint R, Weis J, Fries M, Rex S, Coburn M. Propofol: neuroprotection in an in vitro model of traumatic brain injury. *Crit Care*. 2009; 13: R61.
 113. Huang Y, Zitta K, Bein B, Scholz J, Steinfath M, Albrecht M. Effect of propofol on hypoxia reoxygenation induced neuronal cell damage in vitro. *Anaesthesia*. 2013; 68: 31–39.
 114. Stipic SS, Carev M, Kardum G, Roje Z, Litre DM, Elezovic N. Are postoperative behavioural changes after adenotonsillectomy in children influenced by the type of anaesthesia? *Eur J Anaesthesiol* 2015; 32: 311–319.
 115. Jacob Z, Makaryus R, Zhang S, Reinsel R, Lee H, Feng T. et al. Metabolomic Profiling of Children’s Brains Undergoing General Anesthesia with Sevoflurane and Propofol. *Anesthesiology* 2012; 117: 1062–71.
 116. Wei H, Xie Z. Anesthesia, calcium homeostasis and Alzheimer’s disease. *Curr Alzheimer Res*. 2009; 6: 30–5.

117. Wan Y, Xu J, Ma D, Zeng Y, Cibelli M, Maze M. Postoperative impairment of cognitive function in rats: a possible role for cytokine-mediated inflammation in the hippocampus. *Anesthesiology*. 2007; 106: 436–43.
118. Sall JW, Stratmann G, Leong J, McKlerov BA, Mason D, Pleasure SJ. et al. Isoflurane inhibits growth but does not cause cell death in hippocampal neural precursor cells grown in culture. *Anesthesiology*. 2009; 110: 826–33.
119. Xie Z, Culley DJ, Dong Y, Zhang G, Zhang B, Moir RD. et al. The common inhalation anesthetic isoflurane induces caspase activation and increases amyloid beta-protein level in vivo. *Ann Neurol*. 2008; 64: 618–27.
120. Hernandez F, Avila J. Tauopathies. *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64: 2219–2233.
121. Xie Z, Tanzi RE. Alzheimer's disease and postoperative cognitive dysfunction. *Exp Gerontol*. 2006; 41: 346–359.
122. Bohnen N, Warner MA, Kokmen E, Kurland LT. Early and midlife exposure to anesthesia and age of onset of Alzheimer's disease. *Int J Neurosci*. 1994; 77: 181–185.
123. Bone I, Rosen M. Alzheimer's disease and anaesthesia. *Anaesthesia*. 2000; 55: 592–593.
124. Run X, Liang Z, Zhang L, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Gong CX. Anesthesia Induces Phosphorylation of Tau. *J Alzheimers Dis*. 2009; 16: 619-26.
125. Ikeda Y, Ishiguro K, Fujita SC. Ether stress-induced Alzheimer-like tau phosphorylation in the normal mouse brain. *FEBS Lett*. 2007; 581: 891-897.