

## Artículo de revisión

### Efecto de los anestésicos en el desarrollo cerebral de niños

Enrique Hernández-Cortez. Anestesiólogo pediatra. Director de la revista anestesia en México

Artículo publicado en: Journal of Anesthesia & Critical Care: Open Access. 2015;2(6):1-4.

Autorizado para su republicación.

#### Resumen

Hoy en día la administración de la mayoría de los anestésicos actuales se está cuestionando. El carácter de reversibilidad de estos medicamentos se está poniendo en duda. Especialmente si se trata de anestésicos a niños menores de tres años de edad. La administración de isoflurano incrementa los niveles del calcio intracelular el cual es crítico para daño celular que resulta en daño por apoptosis. Los receptores NMDA y GABA están indirectamente involucrados en la afección de cerebros inmaduros.

La inmadurez del sistema nervioso central asociado a la administración de agentes anestésicos como los inhalados, ketamina, midazolam, óxido nitroso y otros, produce cambios importantes en el cerebro, que repercuten en la vida posterior del niño. En la neurotoxicidad de los anestésicos dos cosas son importantes, dosis y tiempo de administración, los anestésicos de repetición producen mayores cambios cerebrales. Estas modificaciones han resultado en serios cambios conductuales y de la memoria en animales de experimentación. Se sospecha que una situación semejante podría ocurrir en niños quienes manifiestan problemas de aprendizaje en edades escolares.

**Palabras clave.** Apoptosis, anestésicos, déficit cognitivo en niños.

#### Abstract

Today the management of the majority of current anesthetics is challenging. The character of reversibility of these medications is being questioned. Especially if it's anesthetics to children under three years of age. Isoflurane administration increases the levels of intracellular calcium which is critical for cellular damage resulting in damage by apoptosis. NMDA and GABA receptors are indirectly involved in the condition of immature brains.

The immaturity of the central nervous system associated with the administration of anesthetic agents such as the inhaled, ketamine, midazolam, nitrous oxide and others,

produces changes in the brain that affect the child's later life. In the neurotoxicity of anesthetics two things are important, dose and time of administration, repeat anesthetics produce brain changes. These changes have resulted in serious behavioral changes and memory in experimental animals. It is suspected that such a situation could occur in children who manifest learning in school ages.

**Key words.** Apoptosis, anesthetics, cognitive impairment in children.

#### Introducción

La premisa fundamental para la administración de cualquier droga anestésica es su carácter de reversibilidad, implica que el cerebro, la medula espinal y los nervios periféricos son anatómicamente y fisiológicamente los mismos antes y después de la administración de cualquiera de los anestésicos usados. Millones de procedimientos anestésicos se realizan a diario en todo el mundo con aparentes índices de seguridad mundialmente aceptados. Especialmente si la administración de anestésicos en neonatos, tiene un sistema nervioso poco desarrollado o inmaduro. El cerebro de los neonatos se desarrolla en el último trimestre del embarazo durante la vida intrauterina y continúa su desarrollo en los dos primeros años de vida. Hay evidencias de que algunos medicamentos anestésicos administrados a dosis clínicas a niños pequeños, producen neurodegeneración en cerebros inmaduros. Las evidencias más fuertes se describen en ratas recién nacidas que reciben isoflurano, midazolam y óxido nitroso. Dichas evidencias actuales se asocian a problemas de aprendizaje y alteraciones de memoria, en etapas posteriores de los animales de laboratorio. Los estudios más recientes no pueden ser confirmativos, porque ningún estudio está exento de limitaciones, y tampoco pueden descartar completamente un posible daño al sistema nervioso.

La estrategia más fuerte para limitar este posible daño, se basa en la utilización de medidas de neuroprotección con anestésicos locales. Estos últimos medicamentos se recomiendan fuertemente mediante técnicas de anestesia regional (1). Sin embargo no hay que olvidar que los medicamentos anestésicos son solo una parte de la técnica anestésica y del proceso quirúrgico, que recibe un neonato o lactante durante cirugía. Pero queda por aclarar si otras variables como la ventilación mecánica, la estancia en las unidades de cuidados neonatales, las transfusiones sanguíneas la hipotensión, hipoxia e hipoglucemia podrían también afectar el cerebro en fase de crecimiento y desarrollo.

### Desarrollo normal del cerebro en humanos

El desarrollo cerebral toma lugar durante las primeras etapas de su formación, periodo durante el cual el cerebro es más vulnerable a los cambios producidos por agentes anestésicos y otras sustancias tóxicas. En esta etapa la neurogenesis, la gliogenesis y la sinaptogénesis (formación nacimiento y creación de sinapsis), ocurren a una frecuencia muy alta a través de migración, formación de sinapsis, diferenciación y maduración de células neuronales. El mecanismo por el cual los fármacos anestésicos inducen apoptosis neuronal acelerada y cambios en la morfología dendrítica no son muy claros, pero han sido atribuidos a una actividad sináptica reducida o a efectos de excitotoxicidad después de regulación del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), ya que es el neurotransmisor cerebral más importante que actúa principalmente en la activación de receptores, porque este neurotransmisor contribuye esencialmente a la neurogénesis. El mecanismo incluye la inhibición del receptor NMDA y excitación del receptor GABA, además de otros receptores menos conocidos. Dado que la *ketamina* es un antagonista no competitivo de los receptores NMDA que actúa principalmente bloqueando los canales ligando del NMDA, es por lo tanto uno de los agentes que más daño cerebral es capaces de producir. Otro importante receptor es el GABA que también interviene en la neurogénesis. Esta sustancia actúa como un neurotransmisor excitatorio en neuronas inmaduras. La activación de receptores GABA genera potenciales de acción que abren directamente los canales de calcio dependientes de voltaje e incrementa la concentración de calcio intracelular en el hipocampo y en otras estructuras del cerebro. Este estudio es soportado por el conocimiento de que el isoflurano podría incrementar la entrada de calcio vía canales de calcio dependientes de voltaje. El incremento en los niveles de calcio intracelular es crítico para daño celular

que resulta en apoptosis y daño neuronal (2). Es decir que los receptores NMDA y GABA están indirectamente involucrados en el balance de actividad y por lo tanto en la generación de factores tróficos que manejan la diferenciación, el crecimiento y la apoptosis celular en cerebros inmaduros.

Al final del tercer mes de embarazo el cerebro se compone de aproximadamente 125 000 células, al nacer el número de neuronas es de un mil millones, lo que significa que en un periodo relativamente corto se han desarrollado miles de divisiones celulares. El cerebro humano dobla su tamaño en el primer año de vida y alcanza el 90% de su máximo a los seis años de edad, solo la porción baja del sistema nervioso está bien desarrollado (tallo cerebral y medula espinal) mientras que las regiones altas del cerebro (sistema límbico y corteza cerebral) son inmaduras. Todas las neuronas de la corteza son producidas desde antes del nacimiento, pero están pobremente conectadas y la mayoría de sus conexiones sinápticas se desarrollan después del nacimiento. Durante este periodo se estima que el porcentaje máximo de formación de sinapsis en la corteza cerebral es de dos millones de nuevas sinapsis cada segundo. A los dos años de edad la corteza cerebral contendrá cientos de trillones de sinapsis funcionando. Quiere decir que el cerebro continúa su desarrollo mucho después del nacimiento (3).

Las etapas de desarrollo del cerebro se dividen en: neurogénesis y proliferación, diferenciación, formación de sinapsis y mielinización. El número de sinapsis es mayor durante la infancia y disminuye a través de la niñez. En el cerebro humano la *sinaptogénesis* comienza en el último trimestre del embarazo y se cree que se completa al final del segundo o tercer año de vida (4). La pérdida de neuronas ocurre vía apoptosis. La apoptosis o "*suicidio celular*" es un proceso organizado consumidor de energía por el cual las células no deseadas son removidas del organismo. Hay muchos factores que pueden disparar la apoptosis, incluyendo el desarrollo y crecimiento normal. Algunas enfermedades, anestésicos y sustancias tóxicas al cerebro, como el alcohol y los antiepilépticos son solo algunos ejemplos bien conocidos hasta hoy en día productores de apoptosis. El segundo proceso significativo es la mielinización del cerebro, el cual ocurre en la vida postnatal. El cerebro de un recién nacido contiene muy poca mielina y la mala nutrición contribuye a la pobre mielinización del recién nacido. La mielinización se completa aproximadamente a los dos años de edad. En condiciones normales la apoptosis es crucial para el desarrollo del cerebro humano.

## Evidencias de daño cerebral en animales de experimentación.

Muchos estudios han mostrado aceleración de apoptosis en cerebros de ratones recién nacidos, después de ser expuestos a anestésicos como la ketamina, el propofol, el óxido nitroso, agentes inhalados como el sevoflurano, isoflurano y desflurano o benzodicepinas como midazolam. El uso de *sevoflurano* 2.5% para anestesia administrado por dos horas, en el décimo cuarto día de gestación a ratas embarazadas, produce inmediatamente un incremento de apoptosis en su descendencia y subsecuentemente daños en el aprendizaje y en la memoria de los ratones recién nacidos a posterior. Interesantemente cuatro horas de exposición a sevoflurano a una MAC de administración, causa problemas importantes en ratones. Igualmente seis horas de exposición a *desflurano* a dosis equipotente de 7.4% - 8% o 0.75% - 2% de *isoflurano* o 1.1% - 3.0% de *sevoflurano*, todos dramáticamente aumentan la apoptosis neuronal cortical en los siguientes seis a ocho días postparto. Parece ser que todos los inhalados utilizados en la clínica inducen cierto nivel de apoptosis a dosis equipotentes. *Isoflurano* causa mayor neuroapoptosis que *sevoflurano* y *desflurano*. En ratones adultos tratados con 8% de desflurano, 3% de desflurano

o 2% de isoflurano por un tiempo de seis horas, dejaron como secuela daño a la memoria, en etapas posteriores de su vida. Desflurano puede causar daño significativo a corto plazo en memoria de espacio o de ubicación. Ninguno de estos anestésicos causó anormalidades emocionales o ansiedad. En ratones pequeños para su edad tratados con seis horas de *isoflurano* al 0.75% o *sevoflurano* 1.1% en ratones pequeños de edad no mostraron evidencias de daño a la memoria. Resultados contrarios se han encontrado con incremento de la apoptosis en neuronas en el hipocampo en la descendencia de las ratas de estudio, con daño en el aprendizaje y en la memoria (5).

Otros estudios han demostrado que ratones muy jóvenes puestos a múltiples exposiciones de sevoflurano, inducen daño cognitivo al mes de edad, esto fue asociado a niveles elevados de marcadores proinflamatorios al final de los tres días de administración del inhalado. Recientemente la neuroinflamación inducida por anestésicos se ha sospechado como posible mecanismo para el deterioro cognitivo en ratones recién nacidos. Parece ser que algunas ratas jóvenes muestran daño cognitivo o neuroinflamación. Es evidente que el daño producido a estos ratones depende de la frecuencia y duración de la exposición al inhalado.

Una sola dosis de cualquiera de los anestésicos inhalados no necesariamente está asociado a una mayor apoptosis o neuroinflamación (6). El propofol 75 mg/kg administrado a ratas de siete días de vida ha mostrado que causa muerte en células de la corteza y del hipocampo, su administración diaria por siete días continuos ha resultado en un daño marcado de neuroapoptosis y una marcada reducción en la densidad neuronal. Lo mismo ocurre en términos de aprendizaje y memoria.

El daño del aprendizaje a largo plazo y los problemas de memoria están asociados a un bajo nivel de neurotransmisores cerebrales, glutamato en la corteza y en el hipocampo de las ratas adultas (7). La mayoría de los conocimientos del efecto tóxico de los anestésicos se han adquirido de roedores de laboratorio, pero recientemente los datos han migrado a otros primates como el mono. Se ha demostrado que la exposición a ketamina o *propofol* durante cinco horas continuas en el mono *rhesus* produce un incremento en apoptosis glial. La exposición al 70% de óxido nitroso con 1 % de isoflurano durante ocho horas a monos *rhesus* a los cinco a seis días de nacidos, ha causado apoptosis neuronal y necrosis de la corteza temporal (circunvolución e hipocampo), situación que no se reproduce cuando ambos compuestos anestésicos se usan solos y a dosis bajas. Es importante mencionar que las dosis de ketamina administrada en estos estudios referidos fueron de 20-50 mg/kg/h, mucho mayores que las permitidas en la práctica clínica. Por lo que es posible que también sean anestésicos dosis dependientes.

## Evidencias clínicas en humanos

Desde hace muchos años se sabe que el consumo del alcohol durante el embarazo tiene consecuencias neurotóxicas graves para el cerebro del feto, dando lugar a un síndrome de alcoholismo fetal caracterizado por microcefalia, convulsiones epilépticas, anormalidades del comportamiento y déficit cognitivo. Se sabe que los agonistas del GABA y los antagonistas de receptores NMDA pueden disparar aceleradamente la apoptosis. Varios estudios han demostrado la asociación entre cirugía mayor neonatal, cirugía cardíaca, reparación de atresia de esófago, laparotomía o hernia inguinal, las cuales se han correlacionado con pobre desarrollo neuronal, cuando se compararon con niños controles sanos no sometidos a agentes anestésicos (8). Niños sometidos a corrección de atresia de esófago durante la etapa neonatal, han mostrado problemas para el aprendizaje y de comportamiento en los años subsiguientes.

Por lo que se conjuntan otros tipos de variables simultáneamente. Los neonatólogos también han reportado hallazgos similares (9). Wilder y colaboradores en una cohorte, estudiaron a niños menores de cuatro años sometidos a cirugía neonatal, y demostraron que los problemas de aprendizaje estuvieron directamente relacionados con el número de cirugías que recibieron. El estudio anterior fue reforzado cuando separaron las enfermedades crónicas y múltiples cirugías e internamientos hospitalarios. Múltiples exposiciones a anestesia incrementaron el riesgo de desórdenes en el aprendizaje, a mayor número de exposiciones de anestesia el riesgo de problemas en el aprendizaje se incrementó proporcionalmente. Los niños que fueron sometidos a una sola exposición de cirugía y anestesia, no mostraron evidencias de problemas con el aprendizaje (10). Di Maggio y colaboradores examinaron una cohorte de niños menores de tres años de edad sometidos a reparación de hernia inguinal con anestesia general. Estos niños tuvieron dos veces más el riesgo de desarrollar discapacidad de aprendizaje, desórdenes de comportamiento, retardo mental, autismo, problemas del desarrollo, del lenguaje y del habla. Los varones fueron los más afectados. El estudio no permite evaluar cuál fue el tiempo, duración y frecuencia de exposición a los anestésicos generales. Curiosamente los trastornos de comportamiento fueron diagnosticados tres a cuatro años posteriores a la exposición (11). Otro estudio muy similar apareció en Australia, en donde estudiaron la asociación entre una sola exposición a anestésicos generales en menores de tres años de edad, y luego más tarde a los 10 años de edad estudiaron el desarrollo neurocognitivo de los mismos niños. Encontraron una reducción significativa en el rendimiento del lenguaje y rendimiento abstracto (12). Hay tres factores que destacan en la afección de los anestésicos en niños menores de 4 años. El primero de ellos es el momento de exposición del medicamento y la edad del niño. Está demostrado que el daño neurológico es altamente dependiente de la etapa de desarrollo cerebral. sin olvidar que muchos de estos niños fueron prematuros y por lo tanto presentaron otras malformaciones congénitas, que originaron mayores periodos de estancia en las unidades de cuidados neonatales y posiblemente múltiples anestias de repetición. parece ser que las neuronas son especialmente vulnerables durante el mayor periodo de reproducción neuronal.

Dicho periodo depende de la especie de que se trate. parece ser que en la rata se encuentra entre el séptimo y el décimo día de vía, en los monos rhesus se encuentra entre el quinto y el décimo sexto día de vida. En el cerebro humano parece que este periodo se encuentra desde el último trimestre de embarazo a los primeros tres años de vida. De igual manera el máximo periodo de sinaptogénesis es diferente para los distintos tipos de células neuronales, por lo tanto es claro que puede existir diferente susceptibilidad neuronal a los anestésicos, dependiendo de la especie de que se trate Otro factor importante es la frecuencia y duración de exposición a los anestésicos. En los animales se ha demostrado que existe una relación directa entre la duración, la exposición y la inducción de apoptosis tanto en vivo con in vitro. Una sola dosis de un anestésico no está necesariamente asociada con el desarrollo de daño neuronal. Múltiples exposiciones a anestésicos generales y cirugía, incrementan el riesgo de problemas del aprendizaje. Dos anestésicos y cirugía en 100 pacientes, presentan un "hazard ratio " (HR) de 1.59 (95% CI: 1.06- 2.37), con tres anestésicos y cirugía con un tamaño de muestra de 44 pacientes, hay un HR de 2.60 (95% CI:1.60- 4.24). El riesgo de problemas de aprendizaje aumenta a medida que la acumulación del anestésico y a medida que la duración de la anestesia sea mayor. Los datos anteriores muestran que la apoptosis neuronal aumenta directamente con la duración o la repetición de anestésicos.

Una sola dosis de *ketamina* en cerebros inmaduros no induce apoptosis en contraste con la repetición o su duración. Cada uno de los anestésicos tiene un tiempo límite para producir daño neuronal y cada especie es también diferente. Las limitaciones del estudio anterior incluyen la administración de anestesia en niños mayores de cuatro años de edad, incluyeron muy pocos neonatos y lactantes menores de un año de edad, y el hecho de que 67% de los niños tuvieron su primera exposición a los anestésicos después del primer año de edad. El 90% de los niños estudiados recibieron anestesia con *halotano* y óxido nítrico sin oximetría y *capnografía*, parámetros de monitoreo que son considerados hoy en día como esenciales (13). El último factor es la dosis necesaria para producir toxicidad. Está claro que al aumentar la dosis se aumenta el número de neuronas afectadas, muchos ejemplos confirman esta afirmación. Por ejemplo isoflurano durante 35 minutos en cuatro días consecutivos en ratones jóvenes, produce un deterioro del rendimiento de la memoria.



## Recomendaciones.

En los Estados Unidos de Norteamérica más de un millón de niños menores de cuatro años, reciben anualmente anestesia general para resolver algún procedimiento quirúrgico necesario. La mayoría de los niños parecen recuperar la totalidad de sus funciones dentro de un nivel aceptable.

Hasta que no se demuestre lo contrario es recomendable mantener la duración de la anestesia y la cirugía lo más corto posible, utilizar medicamentos de acción corta o una combinación de anestesia general con anestesia regional. Los agentes anestésicos más estudiados en términos de neurotoxicidad son los inhalados, especialmente el *isoflurano*. El *isoflurano* ha sido implicado en su antagonismo de receptores NMDA y agonista de receptores GABA. Este agente es dosis dependiente para neurotoxicidad, produce muerte celular, especialmente en el cuerpo dentado y en el bulbo olfatorio, sitios que continúan siendo desarrollados durante el crecimiento temprano. Hay evidencias de que el Xenón con isoflurano puede disminuir el déficit de daño cerebral (14-15).

Los resultados a largo plazo con sevoflurano parecen ser similares al de isoflurano, sin embargo la memoria a corto plazo parece no encontrarse afectada. *Desflurano* presenta acciones similares a isoflurano y a sevoflurano.

En el estudio de *NOPAIN* evaluaron la neurotoxicidad de midazolam en tres grupos, mostró los siguientes datos, en el grupo control 24% de los neonatos presentaron pobre desarrollo neurológico, en 32% de los neonatos del grupo de midazolam y 4% en el grupo de morfina. Al parecer no se observaron diferencias en la severidad de resultados neurológicos. Numerosos estudios han asociado a la ketamina con daños tipo apoptosis en cerebros en vías de maduración. La apoptosis en respuesta a la administración de *ketamina* ha sido dosis dependiente (16). Óxido nítrico, midazolam e isoflurano son los promotores mayores de daño cerebral a los siete días de vida postnatal en ratas (17). El *propofol* ha sido uno de los medicamentos menos estudiados para daño cerebral en cerebros inmaduros de ratones. Sin embargo en los monos Macacos se han observado cambios similares a los de isoflurano, fenómeno visto después de cinco horas continuas de administración por cuatro a cinco días. (18).

Esto nos llevaría a pensar que las técnicas de anestesia endovenosa con propofol, deben de ser evitadas en niños de estas edades, hasta no contar con mejores evidencias de sus efectos a largo plazo. Como podemos ver la mayoría de los anestésicos usados hoy en día en la anestesiología clínica, son capaces de producir daño secundario, la mayoría de ellos a largo plazo cuando el cerebro ha dejado de crecer y reproducirse.

Evitar la exposición prolongada a los agentes inhalados y de preferencia usar los más modernos. Se requiere especial atención a aquellos niños que reciben múltiples procedimientos quirúrgicos. Hay una variedad de compuestos tales como el *litium*, la melatonina, la *L-carnitina*, la *dexmedetomidina*, y el xenón a los cuales se les ha encontrado propiedades que disminuyen la neurodegeneración inducida por anestésicos, aunque su mecanismo de acción no es muy claro aún (19-21).

Es innegable que a la luz de los conocimientos actuales hay muchas preguntas por contestar, solo tenemos pocas respuestas de nuestro pasado inmediato. Durante muchos años administramos anestésicos sin conocimiento de sus efectos a largo plazo. Hoy las investigaciones nos obligan a ser más selectivos y cuidadosos en lo que administramos. Sin embargo seguimos dejando muchas interrogaciones para el futuro.

## Conclusiones

La anestesia no es un fin en sí mismo, es necesaria e indispensable para la realización de un procedimiento quirúrgico. Evitarla de ninguna manera es ético. Es indispensable y necesaria a la luz de los conocimientos actuales.

Los hallazgos en seres humanos todavía no son lo suficientemente importantes como para demostrar los efectos neurotóxicos en el cerebro de niños menores de tres años de edad. Se requieren de estudios prospectivos diseñados para determinar los cambios definitivos en cerebros en desarrollo. En la práctica diaria es recomendable una anestesia corta y suficiente, con un tratamiento multimodal para el dolor, evitando cambios hemodinámicos severos como hipotensión, hipocapnia, hipoglicemia e hipotermia, ya que estos cambios también pueden afectar el desarrollo neurológico, evitar en lo posible más de un procedimiento quirúrgico con el mismo anestésico.

1. Hernández-Cortez E. Neurotoxicidad de los anestésicos en el neonato y lactante. En: Hernández-Cortez E, Editor. Complicaciones de la anestesia pediátrica. México: Editorial Prado; 2014. p. 63-81.
2. Zhaowei Z, Daqing M. Anaesthesia-Induced neurotoxicity in developing brain: An update on preclinical evidence. *Brain Sci* 2014;4:136-149.
3. Hansen TG. Neurotoxicity, general anesthesia and the developing brain what have we learned from the human studies so far?. *Curr Anesthesia Rep* 2013;3:175-183.
4. Davidson AJ. Anesthesia and neurotoxicity to the developing brain: the clinical relevance. *Pediatric Anesthesia* 2011;21:716-721.
5. Liang G, Ward C, Peng J, Zhao Y, Huang B, Wei H. Isoflurane causes greater neurodegeneration than an equivalent exposure of sevoflurane in the developing brain. *Anesthesiology* 2010;112:1325-1334.
6. Istaphanous GK, Howard J, Nan X, Hughes EA, McXann JC, McAuliffe JJ, Danzer SC, Loepke AW. Comparison of the neuroapoptosis properties of equipotent anesthetic concentrations of desflurane, isoflurane or sevoflurane in neonates mice. *Anesthesiology* 2011;114:578-587.
7. Creeley C, Dikranian K, Dissen G, Martín L, Olney J, Brambrink A. Propofol-induced apoptosis of neurones and oligodendrocytes in fetal and neonatal Rhesus macaque brain. *Br. J. Anaesth* 2013;Davidson A,110:S29-S38. De Graaft JC. Anesthesia and apoptosis in the developing brain: an update. *Curr Anesthesiol Rep* 2013;3:57-63.
8. Valke K, Halliday R, Holland AJ, Karskens C, Badawi N. Early developmental outcome of infants with infants hypertrophic pyloric stenosis. *J Pediatr Surg* 2010;45:2369-2372.
9. Wilder RT, Flick RP, Sprung J, et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology* 2009;110:796-804.
10. Di Maggio C, Sun L, Kakavuoli A, et al. A retrospective cohort study of the association of anesthesia and hernia repair surgery with behavioral and developmental disorders in Young children. *J Neurosurg Anesthesiol* 2009;21:286-291.
11. Di Maggio C, Whitehouse A. Long-term differences in language and cognitive function after childhood exposure to anesthesia. *Pediatric* 2012;130:e476-485.
12. Stratmann G, Sall JW, May LD, Loepke AW, Lee MT. Beyond anesthetic properties: the effects of isoflurane on brain cell death, neurogenesis and long-term neurocognitive function. *Anesth Analg* 2010;110:431-437.
13. Sarkar M, Laussen P, Zurakowski D, Shukla A, Kussman B, Odegard K. Isoflurane-induced neuronal degeneration: an evaluation in organotypic hippocampal slice cultures. *Anesth Analg* 2005;101:651-657.
14. Brosnan H, Bickler PE. Xenon neurotoxicity in rat hippocampal slice cultures is similar to isoflurane and sevoflurane. *Anesthesiology* 2013;119:335-344.
15. Sumedha WK, Kathleen MB, Tischkau SA. Considerations for the use of anesthetics in neurotoxicity studies *Comparative Medicine* 2010;60:256-262.
16. Jevotovic-Todorovic V, Hartman RE, Izumi Y, Benshoff ND, Dikranian K, Zorumski CF. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J. Neurosci* 2003;23:876-882.
17. Brambrink A. Propofol-induced apoptosis of neurons and oligodendrocytes in the fetal and neonatal Rhesus macaque brain. *Br J Anesth* 2013;110:i29-i38.
18. Straiko MM, Young C, Cattano D, Creeley CE, Wang H, Smith DJ, Johnson SA, Li ES, Olney JW. Lithium protects against anesthesia induced developmental neuroapoptosis. *Anesthesiology* 2009;110:862-868.
19. Yon Jh, Carter LB, Reiter RJ, Jevotovic-Todorovic V. Melatonin reduce the severity of anesthesia induced apoptotic neurodegeneration in the developing rat brain. *Neurobiol Dis* 2006;21:522-530.
20. Sanders RD, Sun P, Patel S, Li M, Maze M, Ma D. Dexmedetomidine provides cortical neuroprotection: Impact on anaesthetic induced neuroapoptosis in the rat developing brain. *Acta Anesthesiol Scand* 2010;54:710-716.