

# Variación del péptido beta amiloide (1-42) en plasma en pacientes sometidos a anestesia.

Juan Perucho<sup>1,2</sup>, Raquel Ros<sup>2,3</sup>, Pilar Arribas<sup>4</sup>, Diego Parise<sup>4</sup>, Justo García de Yébenes<sup>5</sup>, Isabel Rubio<sup>2,5\*</sup>

## Resumen

**Fundamento y objetivos:** La enfermedad de Alzheimer (EA) es la enfermedad neurodegenerativa con mayor prevalencia. Los procedimientos anestésicos utilizados en cirugía podrían aumentar el riesgo de padecer Alzheimer. El alelo E4 de la Apolipoproteína E (ApoE) se asocia significativamente a casos esporádicos de EA. En este trabajo hemos investigado si la anestesia produce cambios en los niveles plasmáticos del péptido  $\beta$ -amiloide en pacientes intervenidos quirúrgicamente y si estos cambios están relacionados con el genotipo ApoE de dichos sujetos.

**Pacientes y métodos:** Se estudian 58 pacientes intervenidos quirúrgicamente. Se determinaron los niveles de  $\beta$ -amiloide (1-42) en plasma y el genotipo ApoE.

**Resultados:** La anestesia no produjo cambios significativos en los niveles plasmáticos de  $\beta$ -amiloide. Únicamente hubo aumento significativo en los niveles post-anestésicos en una paciente E4/E4. La diferencia entre los niveles pre y post-anestésicos aumenta con la duración del tratamiento.

**Conclusiones:** El procedimiento anestésico analizado en este estudio, intravenoso mediante propofol, parece seguro en la mayoría de los sujetos que se someten a intervenciones quirúrgicas. En los individuos portadores de algún factor de riesgo genético asociado a la EA, así como otras técnicas anestésicas, podrían no ser tan seguros. En esos casos debería valorarse la posibilidad de adecuar los protocolos anestésicos para minimizar el riesgo.

## Variation of plasma amyloid beta (1-42) levels in patients undergoing anaesthesia treatment.

### Abstract

**Background and objective:** Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent neurodegenerative disease. The anesthetic procedures used in surgery might increase the risk of suffering Alzheimer. The E4 allele of the Apolipoprotein E (ApoE) associates significantly to AD sporadic cases. In this study we investigated if anesthesia induces changes in plasma levels of  $\beta$ -amyloid and whether these changes are associated with ApoE genotype in these patients.

**Patients and methods:** We studied samples of 58 patients undergoing surgery in the operating room. We determined the levels of  $\beta$ -amyloid (1-42) in plasma and ApoE genotype.

**Results:** The anesthesia produced no significant changes in plasma levels of  $\beta$ -amyloid. Only there was significant increase in levels post-anesthesia in a patient E4/E4. The difference between the pre-and post-anesthesia levels increases with the treatment.

**Conclusion:** The anesthetic procedure is safe in most subjects who undergo surgery. In individuals carrying a genetic risk factor associated with AD may not be so sure. In such cases it would be possible to adjust the anesthetic protocols to minimize risk.

**Palabras clave:** Enfermedad de Alzheimer.  $\beta$ -amiloide. Anestesia. ApoE.

**Keywords:** Alzheimer's disease.  $\beta$ -amyloid. Anesthesia. ApoE.

1 Servicio de Neurobiología, Hospital Ramón y Cajal de Madrid.

2 CIBERNED, ISCIII, Madrid.

3 Banco de Tejidos para Investigaciones Neurológicas.

4 Servicio de Anestesia y Reanimación, Hospital Ramón y Cajal de Madrid.

5 Servicio de Neurología, Hospital Ramón y Cajal de Madrid.

\* **Correspondencia:**

Isabel Rubio Gómez  
Laboratorio de Neurología, 7ª Drcha.  
Ctra de Colmenar, km 9.1  
28034 Madrid. España

**Tef:** +34 91 336 83 99

**Fax:** +34 91 336 90 16

**E-mail:** mirugo4@yahoo.com

## Introducción

Existe un gran interés en el conocimiento de los factores ambientales que modifican el riesgo de enfermedad de Alzheimer (EA) ya que esto podría permitir disminuir la prevalencia de la pandemia de esta enfermedad que se avecina con la prolongación de la esperanza de vida (1). La anestesia y la cirugía han sido consideradas como sospechosas de aumentar este riesgo de EA en un inicio basándose en estudios poblacionales (2-4), en experimentos *in vitro* (5, 6), *in vivo* (7, 8) y en relación con el trastorno cognitivo post-operatorio (POCD en inglés) tan presente sobre todo en personas mayores y niños tras la anestesia general. Se ha llegado a organizar un simposium para recoger las últimas investigaciones sobre el tema y discutir las posibles relaciones existentes entre los factores (9). Pero, debido a la dificultad que entraña la separación de los factores, sobre todo en estudios con pacientes, aún no sabemos cual de estos procedimientos sería el verdadero responsable de este problema, ni a través de qué mecanismos, directos o indirectos, se media.

Dentro de los factores de riesgo genéticos conocidos para la EA de carácter esporádico, el de mayor aceptación sería la incidencia del alelo E4 de la apolipoproteína E (10-12). Su mecanismo de acción se supone a través de un cambio en el metabolismo de la proteína beta amiloide.

**Tabla 1.** Porcentaje de aparición de los diferentes alelos de APOE en la población española y en pacientes de EA (10).

Alelo APOE	Población general española	Población con EA
ε 2	5	4%
ε 3	85	60
ε 4	10	37
ε 4 + <sup>a</sup>	16	58

Nosotros hemos descubierto que las anestésicas repetidas, sin cirugía, con isoflurano son seguras para los ratones normales pero producen un gran aumento de la mortalidad, trastornos de comportamiento, muerte neuronal y depósito de amiloide en ratones predispuestos a patología tipo EA por mutaciones del gen de la proteína precursora del amiloide (APP) (13). Puesto que los datos obtenidos en ratones indican que la movilización de amiloide por los anestésicos podría constituir un mecanismo clave en la génesis del proceso patológico en este trabajo nos hemos propuesto investigar si los anestésicos generales producen cambios en los niveles circulantes de amiloide en sujetos humanos sin evidencia de enfermedad neurológica y si esos cambios tienen relación con las características genéticas de los sujetos de estudio.

## Material y métodos

Hemos estudiado 58 pacientes sin enfermedad neurológica que fueron sometidos a cirugía mediante anestesia general. Se

excluyeron de este estudio pacientes con cirugías del sistema nervioso central o del sistema cardiovascular. La edad media fue de 59.7±14.7 años, 33 varones y 25 mujeres. La técnica anestésica se realizó con propofol (intravenoso) en 48 casos; con sevoflurano (inhalatorio) en 4, balanceada en 5 y con un anestésico no descrito en 1. En la **tabla 1** se resumen estos datos. Todos los pacientes recibieron tratamiento adicional con analgésicos (56 con remifentanilo, 38 con fentanilo, 10 con cloruro morfínico y números más pequeños con otros analgésicos, ansiolíticos). La duración media de la anestesia fue de 145.6±76.9 minutos y en todos los casos, según el protocolo del estudio, se excluyó la presencia de hipotensión, hipoxia u otras complicaciones cardiovasculares o cardio-respiratorias.

A todos los pacientes se les extrajo, previa firma de consentimiento informado, dos muestras de 4 cc de sangre antes de la anestesia. Una de ellas para la determinación del genotipo ApoE y otra para la determinación de los niveles de péptido β-amiloide (1-42) en plasma. Al finalizar la intervención se extrajo una tercera muestra de sangre para una segunda determinación de los niveles de β-amiloide 1-42. Las muestras de sangre se centrifugan durante 10 minutos a 3000 rpm para separar el plasma. Inmediatamente se congelan a -80°C hasta su análisis. En una de los dos primeras muestras de sangre periférica se extrae el DNA por el método automatizado de MagnaPure (Roche), se amplifica mediante la reacción en cadena de la DNA polimerasa (PCR) el fragmento del gen APOE que contiene las variantes alélicas que corresponden con las posiciones 112 y 158 de la proteína. Los productos amplificados se analizan por secuenciación directa.

En las muestras de plasma pre- y post- anestesia se miden los niveles plasmáticos de amiloide beta 1-42 mediante la técnica de ELISA colorimétrico (INNOTEST β-Amyloid<sub>(1-42)</sub> High Sensitivity Test de Innogenetics).

**Tabla 2.** Datos demográficos, genéticos y procedimientos anestésicos de los pacientes

Pacientes estudiados	58
Edad (años)	59.7 + 14.7
Sexo (hombre/mujer)	33/25
Genotipo ApoE	
E2E2	2
E2E3	3
E3E3	44
E2E4	1
E3E4	7
E4E4	1
Propofol	49
Sevorane	4
Propofol+Sevorane	5
Duración de anestesia (min)	145.6 + 76.9

## Análisis estadístico

El análisis estadístico de las diferencias entre los niveles pre- y post-anestesia de péptido  $\beta$ -amiloide se realizó mediante el test de la t-Student pareada. En ninguno de los genotipos encontrados se halló un cambio significativo de niveles de  $\beta$ -amiloide con una  $p < 0,05$ , aunque en dos grupos de pacientes los E2E4 y E4E4 solo hubo un sujeto evaluable. Los análisis se han realizado con la aplicación estadística GraphPad Prism 4.0.

## Resultados

El número de pacientes con los distintos haplotipos ApoE fue el siguiente: E2E2: 2; E2E3: 3; E3E3: 44; E2E4: 1; E3E4: 7; E4E4: 1. La anestesia no produjo un aumento importante de los niveles plasmáticos de  $\beta$ -amiloide estudiados (figura 1) salvo en el caso del paciente E4E4, en quien los niveles post-anestesia triplicaron los basales. Tomando en consideración la totalidad de los pacientes estudiados se observó que la anestesia produce una leve disminución de niveles de  $\beta$ -amiloide ( $18.4 \pm 8.6$  pg/ml, pre;  $17.1 \pm 7.6$  pg/ml, post-anestesia, t-test,  $p=0.09$ ) y estas diferencias entre los niveles medios pre- y post-anestesia aumentan con la duración del procedimiento ( $15.9$  pg/ml pre;  $15.5$  pg/ml, post) en los pacientes cuya anestesia tuvo una duración inferior a las 2 horas; ( $19.8$  pg/ml, pre;  $18.2$  pg/ml, post) en los que el procedimiento duró entre 2 y 3 horas; y ( $19.9$  pg/ml, pre;  $18.1$  pg/ml, post) en quienes la anestesia duró más de 3 horas, aunque las diferencias no fueron significativas.

Solo se produjo un aumento significativo de los niveles de  $\beta$ -amiloide, de más de un 300% con respecto a los niveles basales, en el único paciente con genotipo ApoE4/E4. Este paciente tenía unos niveles de  $\beta$ -amiloide pre-anestesia relativamente bajos. Se trataba de una mujer de 63 años de edad que fue sometida a una dilatación de estenosis traqueal, que se realizó sin complicaciones, durante una anestesia con propofol y sevoflurano que duró 75 minutos, lo que no sugiere ninguna

explicación causal a la elevación de los niveles de  $\beta$ -amiloide. Cabe hipotetizar que esta paciente estuviera en situación presintomática de EA, pues en estos pacientes se han descrito niveles bajos de péptido  $\beta$ -amiloide en sangre y líquido céfalo raquídeo (6).

## Discusión

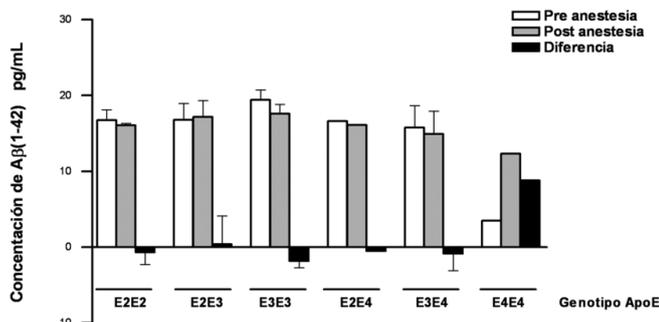
Los pacientes con EA, sobre todo en fases iniciales, tienen niveles bajos de  $\beta$ -amiloide en líquido céfalo raquídeo y en sangre (14, 15). Se ha sugerido que esto se debe a una mayor tendencia a la agregación del  $\beta$ -amiloide y a su depósito en cerebro. Si así fuera la anestesia actuaría como un elemento movilizador del péptido  $\beta$ -amiloide 1-42. Nuestro estudio sugiere, por el contrario, que la anestesia es segura en la mayoría de los pacientes que se someten a intervenciones quirúrgicas, en los que no se produce una movilización significativa, al menos del cerebro a la sangre de péptido  $\beta$ -amiloide.

La elevación de los niveles plasmáticos de amiloide que hemos encontrado en el único paciente homocigoto para ApoE4 podría sugerirnos que esta paciente estuviera en una situación presintomática de EA, pero es imposible sacar conclusiones de un caso aislado. Sería necesario estudiar un mayor número de casos ApoE4/E4. Este estudio requeriría un volumen importante de pacientes, puesto que ese genotipo es relativamente infrecuente en la población española, por lo que debería ser un estudio multicéntrico y prospectivo. Sería necesario realizar el seguimiento de pacientes ApoE4/E4 sometidos a anestias generales, sobre todo con anestésicos halogenados, para valorar el comienzo y la progresión de la enfermedad de Alzheimer.

Si los resultados se confirmaran con un mayor número de pacientes portadores de alelo ApoE4, se podrían adecuar los protocolos anestésicos a cada paciente, para así poder disminuir el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer.

## Referencias

1. Zanetti O, Solerte SB, Cantoni F. Life expectancy in Alzheimer (AD). Arch Gerontol Geriatr. 2009; 49 Suppl 1:237-43.
2. 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.
3. Gasparini M, Vanacore N, Schiaffini C, Brusa L, Panella M, Talarico G, Bruno G, Meco G & Lenzi GL. (2002). A case-control study on Alzheimer's disease and exposure to anesthesia. Neurol Sci 23, 11-14.
4. Lee A, Gin T. (2005). Educating patients about anaesthesia: effect of various modes on patients' knowledge, anxiety and satisfaction. Curr Opin Anaesthesiol 18, 205-208.
5. Kvolik S, Glavas-Obrovac L, Bares V, Karner I. (2005). Effects of inhalation anesthetics halothane, sevoflurane, and isoflurane on human cell lines. Life Sci 77, 2369-2383. .



**FIGURA 1.** Efectos de anestesia en niveles plasmáticos de  $\beta$ -amiloide según genotipo ApoE.

6. Xie Z, Dong Y, Maeda U, Moir RD, Xia W, Culley DJ, Crosby G, Tanzi RE. (2007). The inhalation anesthetic isoflurane induces a vicious cycle of apoptosis and amyloid beta-protein accumulation. *J Neurosci* 27, 1247-1254.
7. Culley DJ, Baxter M, Yukhananov R, Crosby G. (2003). The memory effects of general anesthesia persist for weeks in young and aged rats. *Anesth Analg* 96, 1004-1009, table of contents.
8. Mena MA, Perucho J, Garcia de Yébenes (2010) Studies in animal models of the effects of anesthetics on behavior, biochemistry and neuronal cell death. *J Alzheimer Disease*, sept 21 2010. (IP: 5.101).
9. Baranov D, Bickler PE, Crosby GJ, Culley DJ, Eckenhoff MF, Eckenhoff RG, Hogan KJ, Jevtovic-Todorovic V, Palotas A, Perouansky M, Planel E, Silverstein JH, Wei H, Whittington RA, Xie Z, Zuo Z. (2009). Consensus statement: First International Workshop on Anesthetics and Alzheimer's disease. *Anesth Analg* 108, 1627-1630.
10. Seto-Salvia N, Clarimon J. (2010). [Genetics of Alzheimer's disease]. *Rev Neurol* 50, 360-364.
11. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, et al. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993; 43 (8):1467-72.
12. Roses AD. Apolipoprotein E alleles as risk factors in Alzheimer's disease. *Annu Rev Med*. 1996; 47:387-400.
13. Perucho J, Rubio I, Casarejos MJ, Gomez A, Rodriguez-Navarro JA, Solano RM, et al. Anesthesia with Isoflurane Increases Amyloid Pathology in Mice Models of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2010; DOI 10.3233/JAD- 2010-1318.
14. Mehta PD, Pirttilä T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM. Plasma and Cerebrospinal Fluid Levels of Amyloid b Proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 2000; 57:100-105.
15. Fagan AM, Head D, Shah AR, Marcus D, Mintun M, Morris JC, et al. Decreased cerebrospinal fluid Abeta (42) correlates with brain atrophy in cognitively normal elderly. *Ann Neurol*. 2009; 65(2):176-83.

**Publish with iMedPub**<http://www.imedpub.com>

- ✓ Es una revista en español de libre acceso.
- ✓ Publica artículos originales, casos clínicos, revisiones e imágenes de interés sobre todas las áreas de medicina.

**Archivos de Medicina**

- ✓ Se hace bilingüe.

Para la versión en inglés los autores podrán elegir entre publicar en Archives of Medicine:

<http://www.archivesofmedicine.com>

o International Archives of Medicine:

<http://www.intarchmed.com>