

Comparación del efecto cardioprotector del preacondicionamiento farmacológico con anestésicos halogenados: sevoflurano versus isoflurano *in vivo*

DRES. MARCELO DANIEL ESPÍNEIRA ISABELLA¹, RAFAEL MILA GARCÍA², MANUEL ALBERTI CORREA¹, HÉCTOR PÍRIZ ABIB³

1. Ayudante Titular del Departamento de Fisiopatología, Facultad de Medicina.

2. Asistente Titular del Departamento de Fisiopatología, Facultad de Medicina.

3. Profesor Director del Departamento de Fisiopatología, Facultad de Medicina.

Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Correspondencia: Dr. Marcelo Espíñeira. Julio César 1388. Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: mespineira@hc.edu.uy

Recibido febrero 2, 2007; aceptado mayo 23, 2007.

RESUMEN

Fundamento: los anestésicos halogenados inducen preacondicionamiento y se utilizan en cirugía cardíaca. Muestran diferente poder preacondicionador, lo que se adjudica en parte a sus propiedades fisiocoquímicas, al modelo animal utilizado y a su uso en distintas concentraciones.

Objetivo: generar estrategias aplicables de protección frente al daño isquemia-reperfusión miocárdica. Comparar el efecto preacondicionador de sevoflurano e isoflurano *in vivo*.

Material y método: estudiamos cuatro grupos de seis ratas cada uno ($n=24$). Se utilizó un modelo en rata Wistar de isquemia-reperfusión miocárdica mediante infarto por ligadura de la arteria coronaria izquierda. Se realiza monitoreo hemodinámico y electrocardiograma (ECG) continuo, tinción histológica de área de infarto y en riesgo de infarto. El preacondicionamiento isquémico se realizó mediante ligadura seriada intermitente de la arteria coronaria izquierda previa al episodio de infarto de 30 minutos de duración; el preacondicionamiento farmacológico se realiza por exposición intermitente a halogenados previo a evento de infarto: 1 MAC de isoflurano y sevoflurano. Se comparan resultados con control.

Resultados: se expresan como porcentaje del área de infarto isquémico ($15,8 \pm 3,1$); sevoflurano ($21,8 \pm 1,3$); isoflurano ($28,3 \pm 1,3$). Punta-control ($41,3 \pm 2,0$); preacondicionamiento en relación con el área de riesgo de infarto (media \pm desvió estándar). Las zonas donde fue más evidente el fenómeno fueron: centro-control ($33,7 \pm 2,2$); preacondicionamiento isquémico ($18,5 \pm 1,4$); sevoflurano ($26,5 \pm 1,9$); isoflurano ($33,9 \pm 2,3$). Hubo significación con $p < 0,05$ (ANOVA - Bonferroni) para todos los grupos entre sí.

Conclusiones: el sevoflurano fue más efectivo que el isoflurano en la protección frente al daño por isquemia reperfusión. El preacondicionamiento isquémico mostró mayor protección que ambos halogenados.

PALABRAS CLAVE:

ISOFLURANO

ANESTÉSICOS POR INHALACIÓN

DAÑO POR REPERFUSIÓN MIOCÁRDICA

SUMMARY

Background: halogenated anesthetics induce preconditioning and are used in cardiac surgery. They show different preconditioning effect, in part due to their distinct physical and chemical properties, animal model chosen and different concentrations, utilized.

Objectives: To develop applicable strategies of myocardial protection against ischemia-reperfusion injury. To compare the preconditioning effect of sevoflurane and isoflurane *in vivo*.

Methods: four groups of 6 Wistar rats each ($n=24$) were studied using a myocardial ischemia-reperfusion model with infarct produced by occlusion of the left coronary artery. Continuous hemodynamic and electrocardiographic monitoring, and histological staining of infarct and at-risk areas were performed. Ischemic preconditioning was performed by intermittent serial occlusion of the left coronary artery before the 30-minute infarct occlusion; pharmacological preconditioning was performed by intermittent exposure to volatile anesthetic before the infarct: 1 Minimal Alveolar Concentration of isoflurane and sevoflurane. Results were compared with control.

Results: they are expressed as percentage of infarct area in relation to area at risk (mean \pm standard deviation). Preconditioning was more evident in these areas: center-control ($33,7 \pm 2,2$); ischemic preconditioning ($15,8 \pm 3,1$); sevoflurane ($21,8 \pm 1,3$); isoflurane ($28,3 \pm 1,3$). apex-control ($41,3 \pm 2,0$); ischemic preconditioning ($18,5 \pm 1,4$); sevoflurane ($26,5 \pm 1,9$); isoflurane ($33,9 \pm 2,3$). Statistically significant differences were found between all groups with $p < 0,05$ (ANOVA-Bonferroni).

Conclusions: sevoflurane was more effective than Isoflurane in protecting against ischemia reperfusion injury. Ischemic preconditioning prove to be more protective than both halogenated anesthetics.

KEY WORDS:

ISOFLURANE

ANESTHETIC, INHALATION

MYOCARDIAL REPERFUSION INJURY

INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular es la primera causa de muerte en nuestro país y se proyecta que la cardiopatía isquémica se convierta en la primera causa de muerte en todo el mundo para el año 2020⁽¹⁾. La reperfusión precoz mediante angioplastia coronaria ha mejorado significativamente el pronóstico de los pacientes que padecen cardiopatía isquémica; a pesar de esto, la mortalidad continúa siendo muy elevada y se puede atribuir en parte a la existencia de lesiones letales por reperfusión, las cuales son el objeto de estudio de nuestro trabajo⁽²⁾. La estrategia que ha mostrado mayores beneficios se denomina preacondicionamiento isquémico (PI)⁽³⁾. Este fenómeno se pone en evidencia cuando breves períodos de isquemia y reperfusión alternados (que no producen infarto por su corta duración), son seguidos de un prolongado período de isquemia

para producir la necrosis del miocardio. La aparición del infarto se retrasa pero no se previene la necrosis⁽⁴⁾. El PI es un fenómeno principalmente desencadenado por estímulo de receptores de membrana. En 1991, Downey y colaboradores encontraron que el receptor de adenosina A₁ desencadena el preacondicionamiento en corazón de conejo⁽⁵⁾. Se hicieron luego diversos experimentos en los que se demuestra que prácticamente cualquier receptor acoplado a proteína G, desencadena esta respuesta; el concepto actualmente imperante es que la isquemia desencadena en paralelo múltiples vías a través de varios receptores, lo que resulta en una expresión redundante de vías de señalización. Durante la isquemia el miocardio libera opioides, noradrenalina, adenosina y bradiquinina, los cuales actúan en sus receptores de forma autocrina y paracrína. El bloqueo de sólo un tipo de receptor incrementa el umbral isquémico para el desencadenamiento de la respuesta protectora, pero no logra una abolición de la misma⁽²⁾. El PI desencadena la activación de múltiples señales de sobrevida, si bien no se conoce con precisión a través de cuál mecanismo disminuye la apoptosis, la mitocondria parece jugar un rol central. La activación de la vía PI3K-Akt en el preacondicionamiento protege de la muerte por apoptosis⁽⁶⁾.

Es posible inducir farmacológicamente esta protección, lo que ofrece una alternativa terapéutica potencialmente beneficiosa para reducir el daño miocárdico, sin los riesgos de generar isquemia para proteger el miocardio; esta estrategia se denomina preacondicionamiento farmacológico (PF)⁽¹⁾.

La administración de anestésicos volátiles induce preacondicionamiento y su protección es de intensidad comparable al del PI^(7,8). Ejercen cardioprotección de forma aguda con un efecto memoria que dura más allá de su eliminación. Esta respuesta es bloqueada por los mismos compuestos químicos que bloquean la protección inducida por el PI (antagonistas del receptor A1 de adenosina, inhibidores de proteína G, secuestradores de especies reactivas del oxígeno [ROS], inhibidores de la PKC, bloqueadores de los canales de K⁺ ATP dependientes [KATPch] e inhibidores de la COX-2)⁽⁹⁻¹¹⁾. Esto sugiere que los anestésicos inducen cardioprotección a través de vías moleculares comunes al PI, con la ventaja de no requerir isquemia para inducir protección.

Estudios en corazón aislado de rata sugieren que ciclos repetidos de exposición al anestésico volátil y lavado proveen mayor protección que un ciclo solo⁽¹²⁾. Esto podría modificar la aplicación actual de gases anestésicos durante la cirugía cardíaca. Existen estudios clínicos que han demostrado beneficios en el uso de anestésicos volátiles en el contexto de la cirugía cardíaca: menor liberación de troponina I y creatiniquinasa-MB⁽¹³⁻¹⁵⁾, disminución en la liberación de péptido natriurético cerebral⁽¹⁶⁾, mayor preservación de la función ventricular luego de cirugía y menor evidencia de daño miocárdico postoperatorio⁽¹⁷⁾. El isoflurano y el sevoflurano son agentes anestésicos con propiedades fisicoquímicas diferentes, han sido utilizados en diferentes modelos animales y a diferente concentración, muestran potencia distinta para preacondicionar. Se desconoce cuáles son los mecanismos que explican estas diferencias. Se plantea que puede deberse en parte a particularidades fisicoquímicas de cada agente, utilización de concentraciones de anestésicos no comparables en los estudios, diferencia en la expresión de receptores acoplados a proteína G en los distintos modelos, alteración diferencial en el metabolismo del calcio intracelular y su efecto antiapoptótico, entre otros⁽¹⁸⁻²¹⁾. El siguiente trabajo compara la potencia de dos anestésicos halogenados en la cardioprotección por preacondicionamiento farmacológico, en un modelo de rata *in vivo*, utilizando sevoflurano e isoflurano.

OBJETIVO

Contribuir a la generación de estrategias aplicables de protección frente al daño isquemia – reperfusión miocárdica. Comparar el efecto preacondicionador de sevoflurano e isoflurano en un modelo de isquemia-reperfusión *in vivo*.

MATERIAL Y MÉTODO

MODELO GENERAL

Se utilizan ratas Wistar macho con peso de 350 g a 500 g distribuidas en cuatro grupos de seis (n=24). Son anestesiadas con pentobarbital (35 mg/kg por vía intraperitoneal). Se realiza traqueostomía previa infiltración cutánea de lidocaína al 1%. Se coloca tubo endotraqueal de calibre y tamaño adecuado, se curariza al roedor (bromuro de pancuronio 0,06 mg/kg) y se ventila mecánicamente con aire enriquecido con O₂ mediante un respirador a presión positiva (ventilador para roedores tipo Samai). La ventilación se adecua para mantener los gases en sangre dentro de los límites fisiológicos. Se realiza disección del paquete vasculonervioso de la región carotídea, se cateterizan arteria carótida y vena yugular interna para registrar la presión intraarterial, tomar muestras para gasometrías y obtener una vía venosa para la administración de fármacos y fluidos. La temperatura del animal es registrada mediante un termómetro rectal digital (OMROM modelo MC-3BC). Se realiza monitorización electrocardiográfica continua con tres electrodos bipolares que se colocan en las extremidades. Se registra de forma continua electrocardiograma (ECG) de superficie y presión arterial de forma invasiva mediante catéter intraarterial carotídeo conectado a un transductor de presión en un electrocardiógrafo y polígrafo (GRASS MODEL 78E). Mediante la monitorización hemodinámica continua se controla la estabilidad hemodinámica realizando aporte de suero fisiológico (NaCl 0,9%) a demanda, manteniendo la presión arterial media en rango fisiológico normal (en caso de inestabilidad hemodinámica o cambios en el ECG, sugestivos de isquemia miocárdica en cualquiera de las fases fuera de los episodios de oclusión arterial coronaria, se excluye al animal del protocolo). Se expone el corazón bajo condiciones estériles, se realiza toracotomía lateral

izquierda, se abre el pericardio; se realiza un punto con hilo (Mononylon-Ethilon, monofilamento 10.0) por debajo de la arteria y vena coronaria izquierda, abarcando parte del espesor miocárdico. Se deja estabilizar la preparación por 20 minutos. Se realiza el infarto ocluyendo la arteria coronaria izquierda, cruzando los hilos de forma tal de detener completamente el flujo sin dañarla. Se confirma la efectividad de la oclusión mediante visualización directa de cianosis epicárdica y cambios compatibles en el ECG de superficie. Se verifica la desoclusión mediante la desaparición del área de cianosis epicárdica. Se establece de forma estándar un tiempo de reperfusión de 120 minutos, luego de lo cual el corazón es rápidamente escindido y se procesa de acuerdo al protocolo (figura 1).

CONTROL

No se realiza preacondicionamiento. Se realiza un episodio de infarto de 30 minutos de duración, seguido de 120 minutos de reperfusión.

PREACONDICIONAMIENTO ISQUÉMICO

El PI se realiza mediante cinco oclusiones intermitentes de la arteria coronaria izquierda de 5 minutos de duración alternando con 5 minutos de reperfusión. Inmediatamente, se realiza infarto de 30 minutos de duración y se deja reperfundir por 120 minutos.

PREACONDICIONAMIENTO FARMACOLÓGICO: ISOFLURANO–SEVOFLURANO

Para cada anestésico se realizan cinco exposiciones intermitentes de 5 minutos de inhalación y 5 minutos de no inhalación previo al infarto de 30 minutos. Se utiliza una MAC (concentración alveolar mínima) tanto para isoflurano como para sevoflurano, que en ratas es equivalente a mezcla de gas al 2% y 2,4%, respectivamente. Estas concentraciones han demostrado inducir preacondicionamiento en varios modelos, incluido rata, y son las más utilizadas en la literatura⁽²²⁻²⁶⁾.

DETERMINACIÓN DEL ÁREA DE INFARTO

A los 120 minutos de reperfusión para la demarcación de la zona de miocardio isquémico de la no isquémica por el catéter de la arteria carótida común se inyecta azul de Evans (1,2 ml de solución al 2%; Sigma-Aldrich). Se liga la arteria coronaria izquierda al mismo nivel que durante el episodio de infarto. El corazón es rápidamente escindido y cortado en trozos de 1 mm a lo largo de su eje mayor en tres secciones (base, centro y punta), las cuales son incubadas en cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio al 1,0% (Sigma-Aldrich) por 5 minutos a 37°C para demarcación del miocardio viable del no viable dentro del área de riesgo. Cada una de las tres piezas son pesadas y las áreas de infarto (AI), área de riesgo (AR), y el ventrículo no isquémico son fotografiadas digitalmente y luego cuantificadas en unidades de área arbitrarias mediante planimetría asistida por software, expresando los datos de forma adimensional como relación entre áreas AI/AR⁽²⁷⁾. Las imágenes son procesadas por un observador externo que desconoce a qué grupo pertenece la muestra, utilizando el software Image pro plus 4.0, de Media Cybernetics (<http://www.mediacy.com>).

PROCESAMIENTO DE DATOS

Los datos se procesan utilizando SPSS 12.0. Para identificación de diferencias significativas entre los grupos se comparan los datos de los grupos para los respectivos cortes miocárdicos (base, centro y punta) utilizando el test de

ANOVA. Posteriormente se realizan comparaciones grupo a grupo mediante análisis post hoc de Bonferroni. Los resultados se expresan gráficamente como media ± intervalo de confianza de 95%. Se toma como significativo p<0,05.

RESULTADOS

Existe diferencia significativa entre medias de porcentaje de área de infarto/área de riesgo (%AI/AR) en los cuatro grupos de animales en zona media y en la punta cardíaca cuando se compara PI, sevoflurano e isoflurano con el control. En la base la diferencia es sólo del PI y sevoflurano respecto a control (ANOVA) (tabla 1 y figura 2A). El procedimiento más efectivo para inducir preacondicionamiento fue el PI y en segundo lugar el sevoflurano, lo cual muestra una diferencia significativa en todos los grupos cuando se comparan en la zona media y la punta cardíaca (p<0,05) (figura 2).

		Sevo	6	12,7333	1,29409
		Iso	6	13,1167	1,63146
		Total	24	12,8042	1,95681
	Centro	Control	6	33,6833	2,22119
		PI	6	15,8167	3,09995
		Sevo	6	21,7833	1,32878
		Iso	6	28,3167	1,34969
		Total	24	24,9000	7,15329
	Punta	Control	6	41,2667	1,98158
		PI	6	18,4833	1,43446
		Sevo	6	26,4500	1,93572
		Iso	6	33,9167	2,29645
		Total	24	30,0292	8,84674

PI: preacondicionamiento isquémico; Sevo: sevoflurano; Iso: isoflurano.

Con los datos de la tabla 1 se calculan los porcentajes de reducción de AI/AR en referencia al control que resultaron para el corte miocárdico *base*: PI 29,5%, sevoflurano 14,8%, isoflurano 12,1%; *centro*: PI: 53,1%, sevoflurano 35,3%, isoflurano 16,0%; *punta*: PI 55,2%, sevoflurano 35,8%, isoflurano 17,9% (figura 2).

DISCUSIÓN

Figura 2. Porcentaje de infarto/área de riesgo para cada grupo de corte miocárdico, A: base; B: centro; C: punta. Los resultados se muestran como media ± intervalo de confianza de 95%. El número de animales es seis por grupo.

TABLA 1. DATOS DESCRIPTIVOS POR ZONA MIOCÁRDICA Y GRUPO DE TRATAMIENTO. SE EXPRESA LA MEDIA DE ÁREA DE INFARTO/ÁREA EN RIESGO DE INFARTO (AI/AR), SIENDO ADIMENSIONAL POR SER UN COCIENTE DE ÁREAS.

	Grupos	N	Media	Desviación típica
Base	Control	6	14,8667	0,38297
	PI	6	10,5000	1,23774

Los resultados muestran que el PI es la estrategia más efectiva de cardioprotección frente al daño por isquemia-reperfusión en este modelo. Produce una reducción del porcentaje de AI/AR de más de 50% (centro y punta). Estos datos concuerdan con la bibliografía. Las estrategias farmacológicas para inducir preacondicionamiento intentan reproducir la protección estimulando vías comunes al PI. Sin embargo, el PI es un fenómeno complejo desencadenado por múltiples vías, por lo que hasta el momento no hay estrategias farmacológicas que logren la potencia protectora del PI.

El análisis de los resultados en *base* muestra que hay un comportamiento distinto al de *punta* y *centro*. Esto puede obedecer a que la región de miocardio en este sector del corazón se encuentra muy próxima al sitio de oclusión de la arteria coronaria, es además la zona de menor tamaño de infarto y por tanto el área a preacondicionar es más reducida.

Pensamos que es una zona de miocardio no favorable para la visualización de preacondicionamiento tanto isquémico como farmacológico en nuestro modelo.

Se demuestra la existencia de PF a través de la reducción de porcentaje de AI/AR en los grupos sevoflurano e isoflurano respecto a control (centro y punta). El sevoflurano produjo significativamente mayor protección en comparación con el isoflurano (*centro y punta*).

Varios estudios demuestran la efectividad de los anestésicos volátiles frente al daño por isquemia-reperfusión (28). Estudios previos muestran datos contradictorios en cuanto a la potencia preacondicionadora de los diferentes anestésicos volátiles. En conejo, el preacondicionamiento con isoflurano logra mayor protección que el sevoflurano, resultado inverso al observado en el presente estudio (24). Nuestro trabajo demuestra que en rata, en un modelo *in vivo*, el sevoflurano preacondiciona con potencia significativamente mayor que el isoflurano. Pensamos que estas diferencias de potencia observadas corresponden a las particularidades de los modelos utilizados. Para realizar inferencias acerca de la potencia cardioprotectora de los anestésicos volátiles en otros modelos, será necesario profundizar en las razones que explican por qué un agente se muestra superior a otro en un modelo particular y no en otro.

CONCLUSIONES

El PI tiene mayor poder cardioprotector que el PF con anestésicos volátiles: sevoflurano e isoflurano. El sevoflurano muestra mayor potencia preacondicionadora que el isoflurano en un modelo de isquemia-reperfusión de rata *in vivo*.

FINANCIACIÓN

Estudio parcialmente financiado por laboratorio Abbott, a través de la Fundación Manuel Pérez, por la Ley de Fundaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Yellon DM, Hausenloy DJ.** Realizing the clinical potential of ischemic preconditioning and postconditioning. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005; 2: 568-75.
2. **Yellon DM, Downey JM.** Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 2003; 83: 1113-51.
3. **Murry CE, Jennings RB, Reimer KA.** Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.
4. **Reimer KA, Jennings RB.** Biologic basis for limitation of infarct size. *Adv Exp Med Biol* 1986; 194: 315-30.
5. **Liu GS, Thornton J, Winkle DM van, Stanley AW, Olsson RA, Downey JM.** Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-6.
6. **Maulik N, Yoshida T, Engelman RM, Deaton D, Flack JE, Rousou JA, et al.** Ischemic preconditioning attenuates apoptotic cell death associated with ischemia/reperfusion. *Mol Cell Biochem* 1998; 186: 139-45.
7. **Toller WG, Kersten JR, Pagel PS, Hettrick DA, Warltier DC.** Sevoflurane reduces myocardial infarct size and decreases the time threshold for ischemic preconditioning in dogs. *Anesthesiology* 1999; 91: 1437-46.
8. **Kersten JR, Brayer AP, Pagel PS, Tessmer JP, Warltier DC.** Perfusion of ischemic myocardium during anesthesia with sevoflurane. *Anesthesiology* 1994; 81: 995-1004.
9. **Zaugg M, Lucchinetti E, Uecker M, Pasch T, Schaub MC.** Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms. *Br J Anaesth* 2003; 91: 551-65.
10. **Riess ML, Stowe DF, Warltier DC.** Cardiac pharmacological preconditioning with volatile anesthetics: from bench to bedside? *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H1603-7.
11. **Pratt PF, Jr., Wang C, Weihrauch D, Bienengraeber MW, Kersten JR, Pagel PS, et al.** Cardioprotection by volatile anesthetics: new applications for old drugs? *Curr Opin Anaesthesiol* 2006; 19: 397-403.
12. **Riess ML, Kevin LG, Camara AK, Heisner JS, Stowe DF.** Dual exposure to sevoflurane improves anesthetic preconditioning in intact hearts. *Anesthesiology* 2004; 100: 569-74.
13. **Guarracino F, Landoni G, Tritapepe L, Pompei F, Leoni A, Aletti G, et al.** Myocardial damage prevented by volatile anesthetics: a multicenter randomized controlled study. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2006; 20: 477-83.
14. **Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P.** Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999; 100: II340-4.
15. **Tritapepe L, Landoni G, Guarracino F, Pompei F, Crivellari M, Maselli D, et al.** Cardiac protection by volatile anaesthetics: a multicentre randomized controlled study in patients undergoing coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass. *Eur J Anaesthesiol* 2007; 24: 323-31.
16. **Julier K, Silva R da, García C, Bestmann L, Frascalzo P, Zollinger A, et al.** Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology* 2003; 98: 1315-27.
17. **Linden PJ van der, Daper A, Trentham A, De Hert SG.** Cardioprotective effects of volatile anesthetics in cardiac surgery. *Anesthesiology* 2003; 99: 516-7.
18. **Preckel B, Schlack W, Comfere T, Obal D, Barthel H, Thamer V.** Effects of enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on reperfusion injury after regional myocardial ischaemia in the rabbit heart *in vivo*. *Br J Anaesth* 1998; 81: 905-12.
19. **Wei H, Kang B, Wei W, Liang G, Meng QC, Li Y, et al.** Isoflurane and sevoflurane affect cell survival and BCL-2/BAX ratio differently. *Brain Res* 2005; 1037: 139-47.
20. **Roscoe AK, Christensen JD, Lynch C.** Isoflurane, but not halothane, induces protection of human myocardium via adenosine A1 receptors and adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology* 2000; 92: 1692-701.
21. **Conradie S, Coetzee A, Coetzee J.** Anesthetic modulation of myocardial ischemia and reperfusion injury in pigs: comparison between halothane and sevoflurane. *Can J Anaesth* 1999; 46: 71-81.
22. **Wakeno-Takahashi M, Otani H, Nakao S, Imamura H, Shingu K.** Isoflurane induces second window of preconditioning through upregulation of inducible nitric oxide synthase in rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: H2585-H2591.
23. **Hu G, Salem MR, Crystal GJ.** Isoflurane and sevoflurane precondition against neutrophil-induced contractile dysfunction in isolated rat hearts. *Anesthesiology* 2004; 100: 489-97.
24. **Piriou V, Chiari P, Lhuillier F, Bastien O, Loufoua J, Raisky O, et al.** Pharmacological preconditioning: comparison of desflurane, sevoflurane, isoflurane and halothane in rabbit myocardium. *Br J Anaesth* 2002; 89: 486-91.
25. **Wakeno-Takahashi M, Otani H, Nakao S, Uchiyama Y, Imamura H, Shingu K.** Adenosine and a nitric oxide donor enhances cardioprotection by preconditioning with isoflurane through mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel-dependent and -independent mechanisms. *Anesthesiology* 2004; 100: 515-24.
26. **Obal D, Preckel B, Scharbatke H, Mullenheim J, Hoterkes F, Thamer V, et al.** One MAC of sevoflurane provides protection against reperfusion injury in the rat heart *in vivo*. *Br J Anaesth* 2001; 87: 905-11.
27. **Duranski MR, Greer JJ, Dejam A, Jagannathan S, Hogg N, Langston W, et al.** Cytoprotective effects of nitrite during *in vivo* ischemia-reperfusion of the heart and liver. *J Clin Invest* 2005; 115: 1232-40.
28. **De Hert SG.** Cardioprotection with volatile anesthetics: clinical relevance. *Curr Opin Anaesthesiol* 2004; 17: 57-62.