

# Efecto de los anestésicos Enflurano e Isoflurano en ratones con niveles inducidos y deprimidos de citocromo P450.

## Estudios sobre el sistema enzimático metabolizante de drogas

► María del Carmen Martínez<sup>1</sup>, Ana María Buzaleh<sup>2</sup>, Alcira M. del C. Batlle<sup>2</sup>

- 
1. Licenciada en Ciencias Químicas.
  2. Doctora en Ciencias Químicas

Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias (CIPYP) –CONICET– Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires - Ciudad Universitaria, Pabellón II - 2º piso - Buenos Aires - Argentina

Alcira M. del C. Batlle y Ana María Buzaleh son miembros de la Carrera del Investigador del CONICET; María del Carmen Martínez es Becaria de la Universidad de Buenos Aires.

**Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

---

## Resumen

El objetivo del presente trabajo fue investigar los efectos de la anestesia con Enflurano e Isoflurano en ratones con niveles hepáticos de citocromo P-450 (CYP) disminuidos o aumentados. Los animales previamente tratados con alilisopropil-acetamida (AIA) (350 mg/kg), agente destructor del CYP o con Imidazol (400 mg/kg) como inductor, recibieron una única dosis de los anestésicos (1 mL/kg). En el grupo que recibió AIA, los niveles de CYP permanecieron reducidos aún después de la anestesia. Sin embargo, los anestésicos revirtieron el aumento del CYP provocado por Imidazol. La actividad de la isoforma CYP2E1 se indujo en los grupos que recibieron los anestésicos, siendo mayor por la acción conjunta de Imidazol y Enflurano, esto indicaría un aumento en la metabolización de este anestésico. En animales tratados con Imidazol, el Isoflurano revirtió parcialmente la inhibición de las actividades de  $\beta$ -glucuronidasa y sulfatasa producidas por dicho xenobiótico. Ambos anestésicos causaron una reducción en la actividad de triptofano pirrolasa en el grupo que recibió Imidazol pero no en los tratados con AIA. En conclusión, la acción de los anestésicos Enflurano e Isoflurano sobre el sistema metabolizante de drogas dependería de que el CYP esté inducido o no y del anestésico estudiado a pesar de su similitud estructural.

**Palabras clave:** Enflurano \* Isoflurano \* citocromo P-450 \* alilisopropil acetamida \* Imidazol \* sistema metabolizante de drogas.

## Summary

**ENFLURANE AND ISOFLURANE ANAESTHETICS. THEIR ACTION ON DRUG METABOLIZING ENZYME SYSTEM IN MICE UNDER INDUCTION AND DEPLETION OF CYTOCHROME P450**

The aim of this work was to investigate the effect of anaesthesia with Enflurane or Isoflurane on the drug metabolizing system in mice under depletion or induction of cythochrome P-450 (CYP) provoked by allyliso-propylacetamide (AIA) or Imidazol. To this end animals treated or not with

*AIA (350 mg/kg) or Imidazole (400 mg/kg) received a single dose of Enflurane or Isoflurane (1 mL/kg). In AIA treated mice, total CYP levels were strikingly diminished when the xenobiotic was administered either alone or plus the anaesthetics. In Imidazole treated mice, total CYP levels were first induced but they returned to control values by effect of the anaesthesia. CYP2E1 activity was strikingly increased in mice receiving the anaesthetics being higher in the group treated with Enflurane and Imidazole: this fact would indicate an increase in Enflurane metabolism. In AIA treated animals, anaesthesia produced no additional effect. Although, in those animals receiving Imidazole, Phase II enzymes activities were less reduced by the action of Isoflurane. A diminishment of Tryptophan pyrrolase activity was observed when the anaesthetics were administered to the Imidazole group, indicating a reduction in the heme regulatory pool. In conclusion, the effects of Enflurane and Isoflurane on drug metabolizing system were dependent on the CYP status and the anaesthetic assayed in spite of the fact that both compounds have a similar chemical structure.*

**Key words:** *Enflurane \* Isoflurane \* cytochrome P-450 \* alilisopropilacetamide \* Imidazole \* drug metabolizing enzyme system.*

## Introducción

El Enflurano (Ethrane, 2-Cl-1,1,2-trifluoroetil difluorometiléter) y el Isoflurano (Forane, 1-Cl-2,2,2-trifluoroetil difluorometiléter) son anestésicos potentes por inhalación (1). La hepatotoxicidad y nefrotoxicidad producida por estas drogas está mediada por el metabolismo oxidativo catalizado por el citocromo P-450 (CYP). Ambos anestésicos son metabolizados *in vivo* tanto en animales como en el hombre, a fluoruro inorgánico (2) (3).

La familia multigenética del CYP involucra un considerable número de isoformas que catalizan el metabolismo de numerosos compuestos endógenos y exógenos (4). De las múltiples formas del CYP presentes en los microsomas hepáticos, el CYP2E1 es la isoforma involucrada en la defluorinación de anestésicos volátiles en humanos (5) (6).

La potenciación de la interacción entre drogas es mayor en el caso de anestésicos que entre otras drogas en la terapéutica clínica y está relacionada con la velocidad de metabolización, ya sea del anestésico o de algún producto tóxico generado por la biotransformación del agente. La inducción enzimática puede producirse por tratamiento con drogas o por exposición crónica a químicos ambientales. La inhibición enzimática puede ser el resultado de situaciones experimentales como consecuencia de una variedad de tratamientos (7) (8). Se ha argumentado que la mayoría de las interacciones entre drogas asociadas con inducción enzimática no tiene grandes efectos sobre la conducta de la anestesia (9), pero hay pacientes para quienes ignorar el potencial del metabolismo de la anestesia puede ser fatal.

El aumento o disminución de los niveles de CYP hepáticos provocados por fármacos, podría afectar el metabolismo de los anestésicos volátiles y, por lo tanto, in-

fluir sobre la acción de estos agentes sobre los diferentes metabolismos.

El tratamiento previo con fenobarbital, conocido inductor del CYP (10) y poderoso agente porfirinogénico (11), produce sólo un ligero aumento de la defluorinación del Isoflurano y prácticamente no modifica la defluorinación del Enflurano (12).

En trabajos previos, se observó que la administración aguda y crónica de Enflurano e Isoflurano a ratones produjo marcadas alteraciones en el metabolismo del hemo, estableciéndose así las propiedades porfirinogénicas de estos anestésicos (13) (14).

Teniendo en cuenta que existe mucha similitud entre las porfirias inducidas por fármacos y la estimulación del sistema metabolizante de drogas, es que resultó de interés evaluar los efectos de los anestésicos sobre el sistema de Fase I y II en animales a los que se les indujo o se disminuyeron los niveles de CYP totales. Como agente destructor del CYP se utilizó AIA (15), mientras que para su inducción se empleó Imidazol (16).

En estas condiciones experimentales, se observó previamente que en animales tratados con AIA o Imidazol, los anestésicos no producían modificaciones adicionales a las ya provocadas por estos xenobióticos sobre la síntesis del hemo (17). Sin embargo, se detectaron alteraciones sobre la degradación del hemo. Al respecto, el Isoflurano produjo una inducción en la actividad de la enzima responsable de dicha acción, la hemo oxigenasa, cuando se administró a animales tratados con AIA y una reducción en aquellos que recibieron Imidazol.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la acción del Enflurano e Isoflurano a nivel del sistema metabolizante de drogas en animales, bajo las condiciones experimentales descritas, a través de la medición de las actividades de las enzimas de la fase I y II y en particular la actividad de la isoforma CYP2E1.

También, se midió la actividad de Glutathion S-transferasa (GST), enzima marcadora de integridad hepática (18) y de triptofano pirrolasa (TRP), enzima marcadora del *pool* de hemo regulatorio (19).

## Materiales y Métodos

Los anestésicos Enflurano e Isoflurano fueron gentilmente donados por Abbott Laboratories S.A. Todas las otras drogas usadas fueron de grado analítico, provenientes de Sigma Chem. Co., St. Louis, USA.

### ANIMALES

Se utilizaron ratones machos cepa *CF1* (6 animales/grupo, 48 animales/lote) con un peso entre 25-30 g, los cuales se mantuvieron en condiciones controladas con libre acceso a comida (Purina 3, Asociación de Cooperativas Argentinas, San Nicolás, Buenos Aires, Argentina) y agua. Los animales recibieron tratamiento de acuerdo a lo establecido por la Asociación Argentina de Especialistas en Animales de Laboratorio (AADEALC).

### TRATAMIENTOS

*Enflurano o Isoflurano*: los animales recibieron una única dosis de 1 mL/kg (i.p.) (0,03:0,3 mL de aceite, v:v) y se sacrificaron a los 20 min después de la inyección.

*AIA*: Los animales recibieron una única dosis de 350 mg/kg (1:3 etanol: NaCl 0,9%, i.p.) 16 horas antes de la administración de los anestésicos (Grupos: AIA+E o AIA+I) o con el vehículo (Grupo: AIA) empleado para solubilizarlos (aceite) y se sacrificaron a los 20 min posteriores.

*Imidazol*: los animales recibieron una dosis de 400 mg/kg, durante 4 días; a las 24 horas posteriores a la última dosis, los ratones fueron inyectados con los anestésicos (Grupos: IMI+E ó IMI+I) o con el vehículo (Grupo: IMI) empleado para solubilizarlos (aceite) y se sacrificaron a los 20 min posteriores.

*Controles*: se trabajó con 3 grupos de animales controles los cuales recibieron los vehículos utilizados para solubilizar el AIA, el Imidazol o los anestésicos y se sacrificaron a los tiempos establecidos para cada tratamiento.

### MÉTODOS DE ANÁLISIS

Los animales se ayunaron 16 horas antes del sacrificio y fueron sacrificados, en todas las experiencias, a la misma hora del día, bajo anestesia con éter. Se realizó una perfusión aórtica con solución fisiológica (NaCl

0,9%, p/v) y se extrajo el hígado, el cual se procesó inmediatamente.

La medición de las actividades de las enzimas GST, TRP y de la isoforma CYP2E1 se realizó espectrofotométricamente; la de sulfatasa y  $\beta$ -glucuronidasa, fluorométricamente de acuerdo a lo descrito por Buzaleh y col (20). La concentración de proteínas se estimó por el método de Lowry y col. (21). Una unidad enzimática se definió como la cantidad de enzima que cataliza la formación de 1 nmol o 1  $\mu$ mol de producto bajo las condiciones estándar de incubación, mientras que en el caso de las enzimas sulfatasa y  $\beta$ -glucuronidasa la misma se expresó como Unidades de Fluorescencia Relativas (UFR). La actividad específica se expresó como unidades enzimáticas por mg de proteína.

Los resultados se evaluaron estadísticamente utilizando el método de Análisis de la Varianza para una Variable (ANOVA), estableciéndose un nivel de probabilidad menor a 0,05 para considerar diferencias significativas entre los distintos grupos experimentales.

## Resultados

### EFECTO DEL ENFLURANO Y DEL ISOFLURANO EN ANIMALES CONTROLES

Los resultados se muestran en la Figura 1.

En animales que recibieron únicamente Enflurano se produjo una inducción del 73% ( $p < 0,05$ ) en la actividad de la isoforma CYP2E1, no observándose variaciones significativas en los otros parámetros estudiados.

En ratones anestesiados con Isoflurano se observó un aumento en las actividades de: TRP (100%;  $p < 0,01$ ), GST (100%;  $p < 0,01$ ) y CYP2E1 (72%;  $p < 0,01$ ). No se detectaron modificaciones en las actividades de  $\beta$ -glucuronidasa y sulfatasa, ni en los niveles totales de CYP.

### EFECTO DEL ENFLURANO Y DEL ISOFLURANO EN ANIMALES TRATADOS CON AIA

Los resultados se muestran en la Figura 2.

Se observó una disminución en la actividad de la TRP del 40% ( $p < 0,05$ ) tanto por la administración de AIA solo o con los anestésicos.

No se observaron variaciones significativas en las actividades de GST,  $\beta$ -glucuronidasa y sulfatasa en ninguno de los grupos analizados.

Los niveles de CYP sufrieron una disminución del 55% ( $p < 0,05$ ) en los animales tratados con AIA siendo dicha reducción del 64% ( $p < 0,05$ ) y del 90% ( $p < 0,05$ ) en los que además recibieron Enflurano e Isoflurano, respectivamente. No se observaron diferencias significativas entre estos grupos.

La actividad de la isoforma CYP2E1 se indujo aproximadamente en un 100% ( $p < 0,05$ ) únicamente en los grupos que recibieron AIA y los anestésicos.

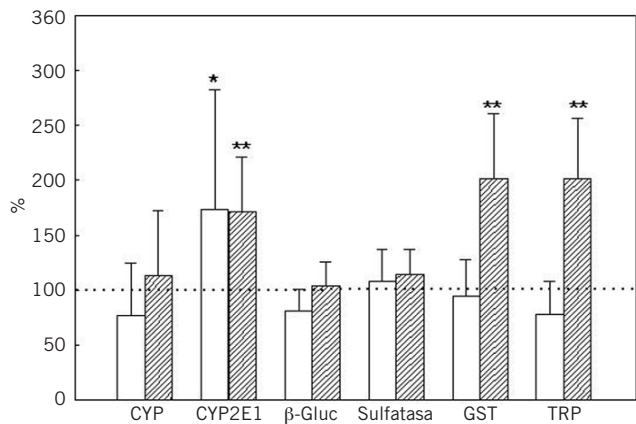


Figura 1. Efecto del Enflurano e Isoflurano sobre el sistema metabolizante de drogas

□ Enflurano      ▨ Isoflurano

Los animales recibieron una única dosis de anestésico (1 ml/kg, i.p) y se sacrificaron a los 20 min. Los controles recibieron sólo el vehículo. Los valores representan el promedio ± DS de los datos obtenidos y se expresan como porcentaje del valor control diario. Valor control promedio (n = 8): TRP (nmol/mg): 0,030 ± 0,005, GST (µmol/mg): 18,600 ± 0,012, β-Glucuronidasa (UFR/mg): 18,226 ± 6,736; Sulfatasa (UFR/mg): 20,433 ± 8,521; CYP (nmol/mg): 0,147 ± 0,075; CYP2E1 (nmol/mg): 23,246 ± 9,037.

(\*\*) p < 0,01; (\*) p < 0,05 Diferencia significativa respecto de los animales controles. Otros detalles experimentales se indican en el texto.

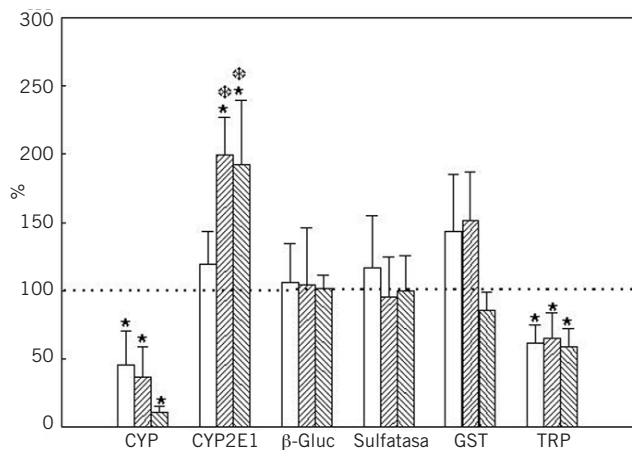


Figura 2. Efecto del Enflurano e Isoflurano en animales tratados con AIA sobre el sistema metabolizante de drogas.

□ AIA      ▨ AIA+E      ▩ AIA+I

Los animales recibieron una única dosis de AIA de 350 mg/kg (1:3 etanol:NaCl 0,9%, i.p.) 16 horas antes de la administración de los anestésicos (Grupos: AIA+E ó AIA+I) o con el vehículo (Grupo: AIA) empleado para solubilizarlos (aceite) y se sacrificaron a los 20 minutos.

(\*) p < 0,05: diferencia significativa respecto de los animales controles. (T) p < 0,01: diferencia significativa entre los grupos tratados con AIA y AIA+anestésicos. Otros detalles experimentales y los valores controles se indican en la leyenda de la Figura 1.

**EFFECTO DEL ENFLURANO Y DEL ISOFLURANO EN ANIMALES TRATADOS CON IMIDAZOL**

Los resultados se muestran en la Figura 3.

No se observaron diferencias significativas en la actividad de la TRP por tratamiento con Imidazol solo, sin embargo la actividad enzimática disminuyó 40% - 50% (p < 0,01) en los animales que recibieron Imidazol y anestésicos. Las diferencias entre los grupos que recibieron Imidazol solo o Imidazol más anestésico resultaron significativas (p < 0,01).

La GST sufrió una inhibición del 33% (p < 0,01) en los grupos de animales tratados con Imidazol o Imidazol más anestesia.

Se observó una inhibición en la actividad de β-glucuronidasa del 56% (p < 0,01) en los animales tratados con Imidazol solo o más Enflurano, y del 40% (p < 0,01) para los tratados con Imidazol e Isoflurano. Únicamente resultó significativa (p < 0,05) la diferencia entre los valores de este último grupo y los de los tratados con Imidazol solo.

La actividad de la enzima sulfatasa sufrió una inhibición del 54% (p < 0,01) en los animales tratados con Imidazol, siendo ésta del 50% (p < 0,01) y del 29% (p < 0,01) para los tratados con Imidazol más Enflurano o Isoflurano, respectivamente. Sólo se observaron diferencias significativas entre los animales tratados con Imidazol e Imidazol más Isoflurano (p < 0,05).

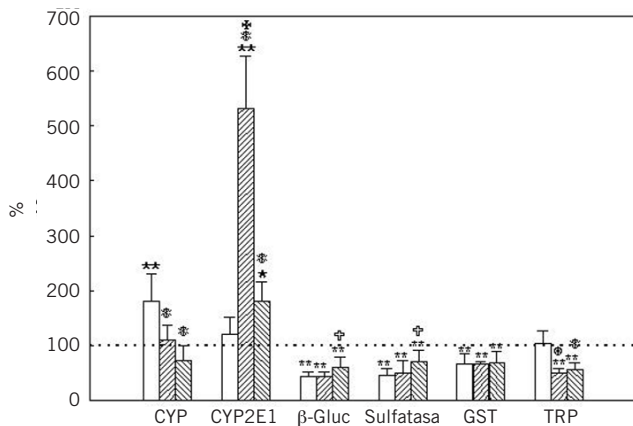


Figura 3. Efecto del Enflurano e Isoflurano en animales tratados con Imidazol sobre el sistema metabolizante de drogas.

□ IMI      ▨ IMI+E      ▩ IMI+I

Los animales recibieron una dosis de Imidazol (400 mg/kg), durante 4 días; a las 24 horas posteriores a la última dosis, los ratones fueron inyectados con los anestésicos (Grupos: IMI+E ó IMI+I) o con el vehículo (Grupo: IMI) empleado para solubilizarlos (aceite) y se sacrificaron a los 20 minutos posteriores.

(\*\*) p < 0,01; (\*) p < 0,05: diferencia significativa respecto de los animales controles. (T) p < 0,01; (U) p < 0,05: diferencia significativa entre los grupos tratados con Imidazol e Imidazol+anestésicos. (X) p < 0,01: diferencia significativa entre los grupos tratados con Imidazol+Enflurano e Imidazol+Isoflurano. Otros detalles experimentales y los valores controles se indican en la leyenda de la Figura 1.



Los niveles totales de CYP aumentaron un 80% ( $p < 0,01$ ) en los animales tratados con Imidazol. No se encontraron variaciones con respecto al control en los animales que recibieron Imidazol más los anestésicos, siendo la diferencia significativa entre el grupo inyectado con Imidazol solo y con Imidazol más los anestésicos ( $p < 0,01$ ).

La actividad de CYP2E1 no sufrió variaciones en los animales tratados con Imidazol, en cambio se observó un aumento del 400% ( $p < 0,01$ ) cuando dicho grupo recibió además Enflurano y del 80% ( $p < 0,05$ ) en los que recibieron Imidazol más Isoflurano, siendo significativa la diferencia entre éstos ( $p < 0,01$ ).

## Discusión

En el presente trabajo se evaluó el efecto conjunto de la anestesia con Enflurano e Isoflurano y los xenobióticos AIA e Imidazol sobre el metabolismo oxidativo de drogas a través de la medición del CYP y la actividad de la isoforma CYP2E1 y de dos enzimas involucradas en la conjugación como son la actividad de  $\beta$ -glucuronidasa y sulfatasa.

Dado que los anestésicos inhalatorios volátiles son defluorinados por el CYP, los fármacos capaces de producir una inducción de las enzimas de este sistema detoxificante de drogas pueden provocar un aumento en la producción de fluoruro y por lo tanto, nefrotoxicidad. La asociación entre anestesia y fenobarbital, causó efectos diversos sobre las enzimas del sistema metabolizante de drogas en animales tratados en forma crónica con los anestésicos Enflurano e Isoflurano (22).

Es de destacar que, independientemente de que los niveles totales de CYP estuvieran inducidos o disminuidos, en presencia de los anestésicos se inducía la actividad de la isoforma CYP2E1 corroborando nuevamente estos resultados la participación de esta isoforma en el metabolismo del Enflurano y el Isoflurano (5). Sin embargo, la inducción detectada en los animales que recibieron Imidazol y Enflurano fue significativamente mayor que la provocada por el anestésico solo, indicando un aumento en el metabolismo del Enflurano. Hoffman y col. (23) hallaron un incremento del 250% del metabolismo del Enflurano en conejos previamente tratados con Imidazol.

Sin embargo, la inducción del CYP producida por el Imidazol fue revertida por ambos anestésicos. Resultados similares fueron obtenidos por Chen y col. (24) cuando estudiaron el efecto del propofol, anestésico utilizado para inducir y para el mantenimiento de la anestesia, el cual también es metabolizado a través del sistema de monooxigenasas dependiente del CYP. Estos autores observaron una acción inhibitoria por parte de dicho anestésico sobre el CYP, hecho que atribuyeron a una interacción directa con los sitios activos de

las isoformas 2B1 y 1A1 y en menor medida con la 2E1.

No se observaron alteraciones adicionales a las provocadas por el AIA por la anestesia en los otros parámetros evaluados, en forma similar a lo obtenido cuando se investigó la acción conjunta de ambas drogas sobre el metabolismo del hemo (17).

Por el contrario, la administración de los anestésicos a ratones tratados con Imidazol produjo importantes variaciones adicionales a las ya inducidas por este xenobiótico. La disminución provocada en las actividades de  $\beta$ -glucuronidasa y sulfatasa por el Imidazol fue significativamente menor cuando se administró conjuntamente con el Isoflurano. Por otro lado, cuando se estudiaron los efectos sobre la actividad de la hemoproteína TRP, los anestésicos redujeron su actividad en los animales tratados con Imidazol, lo que indicaría una disminución en el *pool* de hemo regulatorio.

La GST juega un rol fisiológico durante el inicio de la detoxificación de potentes agentes alquilantes (25), incluyendo compuestos farmacológicamente activos. En humanos, se observó que la GST no variaba en individuos anestesiados con Isoflurano durante 20 minutos (26) o con Isoflurano durante 10 horas (27). Bajo las condiciones experimentales del presente trabajo, la administración de Enflurano o Isoflurano no produjo modificaciones sobre la actividad de GST disminuida por efecto del Imidazol.

Sin embargo, un resultado totalmente opuesto fue la acción del Isoflurano cuando se administró a animales controles, en los cuales las actividades de TRP y GST estaban significativamente inducidas.

Los resultados aquí descriptos confirman nuevamente la diferencia de acción entre el Enflurano y el Isoflurano que ya se había observado cuando se evaluó su efecto sobre el metabolismo del hemo y el sistema metabolizante de drogas en animales bajo distintas condiciones fisiológicas (28). Además, los efectos sobre el sistema metabolizante de drogas de estos anestésicos fueron más significativos cuando existía una inducción en los niveles de CYP hepáticos.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con subsidios otorgados por el CONICET, la Universidad de Buenos Aires y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.

## CORRESPONDENCIA

DRA. ALCIRA M. del C. BATLLE  
Viamonte 1881, Piso 10° "A"  
C1056ABA CIUDAD DE BUENOS AIRES  
Argentina  
Tel: 54-11-4812-3357  
Fax: 54-11-4811-7447  
E-mail: batlle@mail.retina.ar

## Referencias bibliográficas

1. Quail AW. Modern inhalation anaesthetic agents. A review of halothane, isoflurane and enflurane. *Med J Austr* 1989; 150: 95-102.
2. Burke TR, Branchflower RV, Lees DE, Pohl LR. Mechanism of defluorination of enflurane: Identification of an organic metabolite in rat and man. *Drug Metab Dispos* 1981; 9: 19-24.
3. Holaday DA, Fiserova-Bergerova V, Lato IP, Zumbiel MA. Resistance of isoflurane to biotransformation in man. *Anesthesiology* 1975; 43: 326-32.
4. Guengerich FP. Cytochromes P450, drugs, and diseases. *Mol Interv* 2003; 3: 194-204.
5. Kharasch ED, Thummel KE. Identification of Cytochrome P-450 2E1. The predominant enzyme catalyzing human liver microsomal defluorination of sevoflurane, isoflurane and methoxyflurane. *Anesthesiology* 1993; 79: 795-807.
6. Lieber CS. Cytochrome P-4502E1: Its physiological and pathological role. *Physiol Rev* 1997; 77: 517-44.
7. Davis IT. Specific drug interactions in anaesthesia. *Anaesthesia* 1977; 32: 1000-3.
8. Lin JH, Lu AYH. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. *Clin Pharmacokinet* 1998; 35: 361-90.
9. Mazze RI. Metabolism of the inhaled anaesthetics: implications of enzyme induction. *Br J Anaesth* 1984; 56, 27S-41S.
10. Waxman DJ, Azaroff L. Phenobarbital induction of cytochrome P-450 gene expression. *Biochem J* 1992; 281: 577-92.
11. Moore MR, Battistini V, Beattie AD, Goldberg A. The effects of certain barbiturates on the hepatic porphyrin metabolism of rats. *Biochem Pharmacol* 1970; 19: 751-7.
12. Greenstein LR, Hitt BA, Mazze RI. Metabolism *in vitro* of enflurane, isoflurane and methoxyflurane. *Anesthesiology* 1975; 42: 420-4.
13. Buzaleh AM, Enriquez de Salamanca R, Batlle AM del C. Porphyrinogenic properties of the anesthetic enflurane. *Gen Pharmac* 1992, 23: 665-9.
14. Buzaleh AM, Enriquez de Salamanca R, Batlle AM del C. Administration of the anesthetic isoflurane to mice: A model for acute intermittent porphyria? *J Pharmacol Toxicol Methods* 1992; 28: 191-7.
15. Bornheim LM, Underwood MC, Caldera P, Rettie AE, Trager WF, Wrighton SA, et al. Inactivation of multiple hepatic cytochrome P-450 isozymes in rats by allylisopropylacetamide: mechanistic implications. *Mol Pharmacol* 1987; 32: 299-308.
16. Ding X, Peng HM, Pernecky SJ, Davis CJ, Coon MJ. Induction of P-450 cytochromes 2E2, 1A1, by Imidazole in neonatal rabbits. *Drug Metab Dispos* 1992; 20 (6), 792-6.
17. Buzaleh AM, Martínez M del C, Batlle AM. del C. Relevance of cytochrome P450 levels in the actions of enflurane and isoflurane in mice: studies on the haem pathway. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27 (10): 796-800.
18. Hussey AJ, Aldridge LM, Paul D, Ray DC, Beckett GJ, Allan LG. Plasma glutathione S-transferase concentration as a measure of hepatocellular integrity following a single general anesthetic with halothane, enflurane and isoflurane. *Br J Anaesth* 1988; 60: 130-5.
19. Badaway AAB, Mortan CJ. Tryptophan pyrrolase in haem regulation. The relationship between the depletion of rat liver tryptophan pyrrolase haem and the enhancement of 5-aminolaevulinic synthase activity by 2-allylisopropylacetamide. *Biochem J* 1980; 186: 763-72.
20. Buzaleh AM, Vazquez ES, Batlle AM del C. The involvement of microsomal drug metabolizing system during isoflurane anesthesia in alcoholized animals. *Pharmacology Communications* 1996; 7: 101-6.
21. Lowry O, Rosebrough N, Farr A, Randall R. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
22. Buzaleh AM, Vazquez ES, Nunez G, Batlle AM del C. Effect of chronic anesthesia on the drug-metabolizing enzyme system and heme pathway regulation. *Gen Pharmacol* 1997; 28 (4): 577-82.
23. Koop DR, Coon MJ. Purification of liver microsomal cytochrome P-450 isozymes 3a and 6 from Imidazole treated rabbits. Evidence for the identity of isozyme 3a with the form obtained by ethanol treatment. *Mol Pharmacol* 1984; 25: 494-501.
24. Chen TL, Ueng TH, Chen SH, Lee PH, Fan SZ, Liu CC. Human cytochrome P450 mono-oxygenase system is suppressed by propofol. *Br J Anaesthesia* 1995; 74: 558-62.
25. Redick JA, Jakoby WB, Baron J. Immunochemical localization of glutathione S-transferases in livers of untreated rats. *J Biol Chem* 1982; 257: 15200-3.
26. Allen LG, Hussey AJ, Howie J, Beckett GJ, Smith AF, Hayes JD, et al. Hepatic glutathione S-transferases release after halothane anaesthesia: open randomised comparison with Isoflurane. *Lancet* 1987; 1: 771-3.
27. Murray JM, Philips AS, Fee JP. Comparison of the effects of isoflurane and propofol on hepatic glutathione S-transferase concentrations during and after prolonged anaesthesia. *Br J Anaesth* 1994; 72: 599-601.
28. Buzaleh AM, Vazquez ES, Enriquez de Salamanca R, Batlle AM del C. An overview of anaesthesia and porphyria. *Endocrinol Metab* 1997; 4, 267-79.

**Aceptado para su publicación el 4 de enero de 2005**