



UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

**Curso de Pós-Graduação em Patologia**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**COMPARAÇÃO ENTRE OS EFEITOS DA DEXMEDETOMIDINA E DO  
HALOTANO SOBRE O PERFIL DE RECRUTAMENTO CELULAR  
INDUZIDO POR LIPOPOLISSACARÍDEO EM RATOS**

**MANOEL RODRIGUES MEDEIROS NETO**

Salvador - Bahia - Brasil

2005

15.211



001657

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
CENTRO DE PÊSQUISAS GONÇALO MONIZ**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

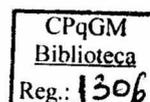
**Comparação entre os efeitos da dexmedetomidina e do  
halotano sobre o perfil de recrutamento celular  
induzido por lipopolissacarídeo em ratos.**

MANOEL RODRIGUES MEDEIROS NETO

Orientador: Dr. Manoel Barral Netto

Dissertação apresentada ao Curso  
de Pós-Graduação em Patologia  
para a obtenção do grau de mestre  
em Patologia Experimental

Salvador - Bahia  
2005



Ficha Catalográfica elaborada pela  
Biblioteca do CPqGM/FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

M488c Medeiros Neto, Manoel Rodrigues  
Comparação entre os efeitos da dexmedetomidina e do halotano  
sobre o perfil de recrutamento celular induzido por lipopolissacarídeo  
em ratos [manuscrito] / por Manoel Rodrigues Medeiros Neto. – 2005.  
36 f. : il. ; 29 cm

Datilografado (fotocópia)  
Dissertação (mestrado)- Universidade Federal da Bahia, Faculdade  
de Medicina. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2005.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Barral Neto, Laboratório de  
Imunoregulação e Microbiologia.

1. Imunidade inata. 2. Anestesia. 3. Alfa-agonistas adrenérgicos. 4.  
Dexmedetomidina. I. Título.

CDU 612.017:615.211

216134

MIL  
MAY 196

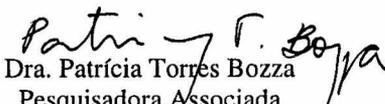
612.017:615.211  
M488c

COMPARAÇÃO ENTRE OS EFEITOS DA DEXMEDETOMIDINA E HALOTANO  
SOBRE O PERFIL DE RECRUTAMENTO CELULAR INDUZIDO EM RATOS

MANOEL RODRIGUES MEDEIROS NETO

FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA

  
Dra. Patrícia Torres Bozza  
Pesquisadora Associada  
FIOCRUZ - RJ

  
Dra. Josmara Bartolomei Fregoneze  
Professora Adjunta  
ICS - UFBA

  
Dr. Manoel Barral Netto  
Pesquisador Titular  
CPqGM - FIOCRUZ

# AGRADECIMENTOS

O presente trabalho é fruto do incentivo e apoio direto de várias pessoas que sempre me vêem um passo adiante de onde eu realmente estou. Para corresponder às suas expectativas, esforço-me como posso e acabo de cometer mais uma realização que espero, muito mais que um mero evento na minha biografia, represente um passo anterior a muitos outros na direção da implementação de uma base regional geradora de conhecimentos na minha área de atuação.

Manoel Barral Netto, Aldina Barral, Maria José Pedreira Ramalho Régis Gomes, Clarissa Teixeira, Jânia Teixeira, Fabienne Petitinga, Cláudia Brodskyn, Carlos Eduardo Aragão, Djalma Neves Costa, Roque Archanjo, José Siquara, Stella Vianna, Rosália, Iumara,

Engº Varlando do Hospital Aliança

Equipe de transplante hepático do Hospital Português de Salvador

Demais colegas do LIP e do Biotério do CPqGM

Demais colegas da Clínica de Anestesia de Salvador.

Colegas do curso de pós-graduação

Todos do Centro de Pesquisas Gonçalo-Moniz

Minha família: Meus pais, Ciça, Marininha, minha chef Jane e a Beth que me propiciaram a tranquilidade necessária e a recompensa dos meus esforços na sua maneira mais direta.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
ABREVIATURAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 REPERCUSSÕES DO STRESS SOBRE A FUNÇÃO IMUNOLÓGICA.....	14
1.1.1 INTERAÇÃO ENTRE O SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO E O SISTEMA IMUNE: O PAPEL DE INTERVENÇÕES FARMACOLÓGICAS.....	16
1.2 O FÁRMACO: SÍTIO DE AÇÃO E EFEITO.....	17
1.2.1 BOLSÃO INFLAMATÓRIO E A AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE INATA.....	19
2 JUSTIFICATIVA.....	20
3 HIPÓTESE.....	21
4 OBJETIVOS.....	21
4.1 GERAL.....	21
4.2 ESPECÍFICOS.....	22
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
5.1 FÁRMACOS.....	23
5.2 ANESTESIA.....	23
5.3 LAPAROTOMIA.....	24
5.4 INDUÇÃO DO BOLSÃO.....	25
5.5 AVALIAÇÃO DA CELULARIDADE ABSOLUTA E RELATIVA DO LAVADO.....	25
5.6 AVALIAÇÃO DO LAVADO PERITONEAL.....	25
6 ANÁLISE DOS DADOS.....	26
7 RESULTADOS.....	26
8 DISCUSSÃO.....	29
9 CONCLUSÃO.....	30
10 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	30
11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32



## RESUMO

Comparação entre os efeitos da dexmedetomidina e halotano sobre o perfil de recrutamento celular induzido em ratos.

**MANOEL RODRIGUES MEDEIROS NETO.** Cirurgia e anestesia geral estão associados a disfunção transitória do sistema imune caracterizada por alterações na produção de citocinas e na função e número dos elementos figurados. A disfunção imune observada no pós-operatório e em unidades de terapia intensiva tem sido associada ao aumento de atividade do sistema nervoso simpático e ao conseqüente aumento de concentração plasmática de catecolaminas. A administração de dexmedetomidina, um agonista dos receptores  $\alpha_2$ adrenérgicos de recente introdução na prática clínica (1999), reduz o requerimento de anestésicos e atenua a resposta simpática/adrenal ao estresse diminuindo a concentração plasmática de noradrenalina. O objetivo do nosso estudo foi documentar o efeito da dexmedetomidina, administrada previamente, sobre o perfil de recrutamento celular precoce induzido pela técnica do bolsão de ar dorsal com estímulo por lipopolissacarídeo em ratos submetidos ou não a laparotomia simples. Foi observada uma significativa ação anti-inflamatória nos animais não operados tratados previamente com dexmedetomidina em relação ao grupo controle ( $p= 0,0393$ ) que ocorreu principalmente às custas da subpopulação de macrófagos ( $p=0,0467$ ), esta ação não foi observada nos animais operados. A nossa conclusão é que a dexmedetomidina é uma droga eficaz e segura como agente anestésico único em ratos apresentando ação anti-inflamatória em circunstâncias estresse leve a moderado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Agonistas  $\alpha_2$ adrenérgicos, Anestesia, Dexmedetomidina, Imunidade inata

## ABSTRACT

### **Comparison in between the effects of dexmedetomidine and halothane on the profile of cell recruitment induced in rats. MANOEL**

**RODRIGUES MEDEIROS NETO.** Surgery and general anesthesia are associated with transient immunologic disfunction featured by changes in cytokine environment and leukocyte number and function. The immunologic disfunction seen in the postoperative period and in the critical care setting has been linked to the augmented sympathetic response, and the increased catecholamine concentration. The administration of dexmedetomidine, an  $\alpha_2$  adrenergic receptor agonist, reduces the anesthetic requirements, attenuates the sympathoadrenal response to the stress and decreases the plasma concentration of norepinephrine. We conducted the current study to determine the effect of dexmedetomidine, previously administered, on the cell recruitment profile using the model of dorsal air pouch with LPS stimulus in rats submitted or not to a simple laparotomy as a concurrent additional challenge. We observed a clear antiinflammatory effect in the non-operated group anesthetized with dexmedetomidine that occurred mainly at the expense of a decreased macrophage subpopulation. This effect was not observed in the laparotomized animals. Our conclusion is that dexmedetomidine is a safe and effective anesthetic/sedative agent that can be used as the only drug and presents a antiinflammatory effect in circumstances of mild to moderate stress.

**KEYWORDS:**  $\alpha_2$ -Adrenergic agonists, Anesthesia, Dexmedetomidine, Innate Immunity

## **Abreviaturas**

AMPc: Adenosina monofosfato cíclica

E.E.U.U.: Estados Unidos da América

F.D.A.: Agência americana que controla a liberação de fármacos para uso em humanos.

I.P.: Intraperitoneal

L.P.S.: Lipopolissacáride bacteriano

# LISTA DE FIGURAS

**Fig.1.....24**

**Fig.2.....26**

**Fig.3.....27**

**Fig.4.....27**

**Fig.5.....28**

**Fig.6.....28**



# 1 Introdução

A dexmedetomidina é um  $\alpha_2$ agonista simpático com alto grau de seletividade (relação entre a taxa de ligação  $\alpha_2/\alpha_1$  de 1600:1) e sua recente disponibilização comercial para uso clínico abre um grande leque de opções de aplicabilidade que vão da simples ansiólise até mesmo à anestesia clínica como agente único passando por usos tão diversos como analgesia em clínica de dor aguda e crônica, oncológica inclusive, e tratamento de arritmias e da síndrome de abstinência de drogas psicoativas. Esta versatilidade é propiciada por seu mecanismo de ação: diminuição do tônus adrenérgico, devido à hiperpolarização membrana pré-sináptica adrenérgica com conseqüente redução da atividade simpática geral. Como ação farmacológica adicional de grande interesse temos a potencialização dos efeitos analgésicos das vias espinhais descendentes (histaminérgica, noradrenérgica e opiatérgica) que convergem no corno posterior da substância gelatinosa para usar uma via comum  $\alpha_2$ adrenérgica.

Quando o tônus do sistema nervoso simpático se altera em direção a extremos de hiperatividade passa a promover efeitos que podem ser desejáveis como em condições de maior demanda metabólica ou, por que por si só passam a exercer papel gerador de disfunção importante do controle hemodinâmico (arritmias, infartos, hipertensão), psíquico (ansiedade, prejuízo do sono fisiológico), e imunológico.

Por sua gama de usos possíveis em clínica anestesiológica e por seu mecanismo de ação (único entre os anestésicos majoritários atualmente disponível para uso em humanos), a dexmedetomidina pode vir a ser a primeira droga anestésica a ser indicada não só por seus efeitos mais imediatos mas também por seu perfil imunomodulatório indireto, via sistema nervoso simpático, sobre a atividade do sistema imune em condições de estresse de fundo hemodinâmico, metabólico e psíquico, isoladamente ou não.

# **1. 1 Repercussões do estresse sobre a função imunológica**

Desde os primeiros achados sobre a associação entre estresse e alterações na função e estrutura do sistema imune (Selye et al. 1936 e 1946; Solomon et al., 1964; Ader et al, 1975), tem se postulado a existência de um papel ativador da resposta imune pelo sistema nervoso. Os órgãos linfóides primários e secundários apresentam inervação simpática (Felten et al., 1991; Meltzer et al., 1997; Panuncio et al., 1999) capaz de promover a liberação de noradrenalina em resposta à administração sistêmica de antígenos (Kohm et al., 2000) e de citocinas (Shimizu et al., 1994). O agonismo dos receptores adrenérgicos expressos na superfície de células linfóides humanas promove aumento na concentração intra-celular de AMPc (Bishopric et al., 1980; Loveland et al, 1981, revisado por Sanders et al., 2001), e é capaz de provocar alterações em seu número e função (Hadden et al., 1970, revisado por Sanders et al., 2001).

O aumento do tônus simpático causa alterações detrimenais sobre a função imunológica que abrangem em suas conseqüências uma vasta gama de situações comumente observadas na prática clínica tais como: retardo de cicatrização da ferida cirúrgica e diminuição de sua resistência a infecções (Kiecolt-Glaser et al., 1998; Glaser et al., 1999; Fehder, 1999; Rozlog, Kiecolt-Glaser et al. 1999), aumento de susceptibilidade a infecção no período imediato após exames invasivos (Lyte et al., 1992, 1993; Straub et al., 2000a), diminuição da resposta a antígenos no período imediatamente seguinte ao exercício físico (Gabrielet al., 1988; Woods et al., 2000; Jonsdottir et al., 2000; Fleshner et al, 2000), agravamento de doenças reumatológicas e oncológicas (Crofford et al., 1999; Kiecolt-Glaser et al., 1999; Miller et al., 2000), especialmente em idosos (Madden et al., 2000) e até mesmo falência de protocolos de vacinação (Glaser et al., 1998).

O lapso de tempo entre a estimulação simpática e a exposição a um antígeno pode determinar o resultado final da resposta imune (Borgeret al., 1999; Shakhari et al., 1998; Ben-Eliyahu et al., 2000). Estes autores demonstraram que a contagem e a atividade periférica de células NK aumenta transitoriamente após o estresse agudo. Este efeito é bloqueado pelo beta-bloqueador nadolol e é mimetizado pela administração de agonistas beta. Esta ativação do sistema nervoso simpático leva a um subsequente aumento na taxa de retenção de células tumorais no pulmão sugerindo a ocorrência de disfunção imune e uma ameaça à resistência orgânica às células metastatizantes sensíveis à lise por células NK.

A exposição de ratos a estresse de restrição diminui a sua produção de células CD8+ em resposta ao HSV e ao vírus da influenza e este efeito parece ser mediado por ação beta-adrenérgica (Dobbs et al., 1993; Sheridan et al., 1998).

As consequências da exposição à hiperatividade simpática de origem endógena ou exógena sobre o sistema imune em certas situações específicas ainda não estão claras e algumas questões se apresentam quanto à interação entre o agonismo simpático e a função do sistema imune:

- Seria possível promover um direcionamento imune intencional em favor de uma resposta predominantemente Th1 ou Th2 ?,
- Qual o papel definido da hiperatividade simpática sobre doenças autoimunes ?,
- Seria possível que uma abordagem psicológica ou farmacológica pudesse prevenir o progresso de algumas patologias como consequência da normalização da atividade simpática?
- É possível que o status do sistema imune influencie a efetividade de um regime de vacinação ?

Considerando-se a relevância do tema, ainda é pequeno volume de estudos com modelos *in vivo* disponíveis na literatura. Estes poucos relatos apresentaram resultados heterogêneos e controversos com limitado potencial de extrapolação para a prática clínica, Há portanto, uma real demanda por investigação adicional dos aspectos imunológicos desta classe de drogas.

## **1.1.1 Interação entre o sistema nervoso autônomo e o sistema imune: o papel de intervenções farmacológicas.**

Uma característica marcante da sinalização sináptica é o uso de uma mesma molécula sinalizadora para promover ações diferentes qualitativa e quantitativamente em diferentes órgãos alvo ou às vezes heterogeneamente dentro de um mesmo órgão; a inervação simpática dos órgãos linfóides é uma evidência de planejamento orgânico para o papel das catecolaminas na fisiologia do sistema imune.

O "extravasamento" (spillover) de catecolaminas de sítios de grande atividade simpática, particularmente em situações de estresse orgânico, e ou psicológico para a circulação sistêmica é um ponto fraco dentro do sistema de sinalização sináptica constituindo-se numa via pela qual sistemas orgânicos sensíveis a catecolaminas podem sofrer ativação indevida e detrimental.

No que se refere ao papel de anestésicos como agentes modificadores da resposta imune, Tait et al (1993) usaram um modelo de recrutamento celular inflamatório com o vírus da influenza em pulmão de ratos e demonstraram significativa atenuação do recrutamento celular no grupo tratado com halotano quando comparado ao grupo tratado pela cetamina. Complementarmente, o efeito da cetamina sobre a função de neutrófilos foi mostrada como detrimental por Nishina et al (1998). Tait et al. (1993) sugerem que o efeito "anti-recrutamento" do halotano pode ser benéfico ao diminuir o dano tecidual causado pela ativação dos PMN.

Nishina et al (1999) realizaram o primeiro estudo *in vitro* sobre os efeitos da clonidina e da dexmedetomidina sobre a função dos neutrófilos humanos demonstrando que a dexmedetomidina não apresenta efeitos sobre quimiotaxia, fagocitose e produção de superóxido por neutrófilos humanos *in vitro* concluindo pela inocuidade da droga sobre a função imunológica; este trabalho foi pioneiro em sua proposta com relação às drogas  $\alpha_2$  adrenérgicas tendo sido citado recentemente como exemplo das limitações

práticas de conclusões obtidas com drogas autacóides em modelos *in vitro* ou *ex vivo*. (Taniguchi et al)

O mecanismo de ação da dexmedetomidina sugere a possibilidade efeitos distintos sobre o sistema imune em relação às outras drogas anestésicas disponíveis. Sua ação atenuante sobre o tônus do sistema nervoso simpático pode representar um fator de proteção contra os efeitos do estresse causado pelo trauma cirúrgico sobre a resposta imune.

Os efeitos sistêmicos da dexmedetomidina a tornam uma indicação possível em situações de clínica anestesiológica nas quais se deseja uma diminuição do impacto da hiperatividade do sistema nervoso simpático sobre órgãos em eventual desequilíbrio da relação suprimento/demanda de oxigênio, notadamente na doença coronariana aterosclerótica associada ou não a anemia, choque ou estados de hiperatividade metabólica como por exemplo: sepse e, ou pós-operatório de grandes intervenções cirúrgicas primárias ou reintervenções.

Os efeitos dos anestésicos e drogas sedativas sobre o sistema imune têm sido amplamente estudados prenunciando o momento em que o efeito sobre o sistema imune vai representar um importante critério na escolha da medicação a ser usada no paciente cirúrgico. (Kelbel et al., 2001).

A preocupação com o efeito das drogas anestésicas sobre o sistema imune cresce na mesma proporção em que aumenta o número de pacientes em estado crítico indicados para intervenções sob anestesia. O perfil imunomodulatório desejável em um anestésico para determinadas situações pode variar do anti-inflamatório como nos casos de sepse, transplantes, síndrome da angústia respiratória do adulto (SARA) e nas cirurgias sob circulação extracorpórea ao minimamente prejudicial, ou inócuo como em oncologia, grandes queimados, e em casos de infecções localizadas.

## **1.2 O fármaco: sítio de ação e efeito**

A dexmedetomidina, o enantiômero dextrógiro da medetomidina, é um agonista  $\alpha_2$  adrenérgico, com relação de seletividade entre os receptores  $\alpha_2:\alpha_1$  de 1600:1 e

importante ação sedativa e analgésica, diminuindo em até 95% a demanda por anestésicos inalatórios em estudos experimentais. Promove estabilidade hemodinâmica com redução do consumo miocárdico de oxigênio e é capaz de, quando usado como sedativo, permitir uma avaliação clínica satisfatória em neurologia. Mesmo no limite superior da sua faixa terapêutica, não causa depressão da função respiratória além de permitir um despertar tranqüilo sob comando verbal o que a torna muito útil no ambiente de terapia intensiva (Revisado por Khan et al).

Os receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos são classificados em  $\alpha_{2a}$ ,  $\alpha_{2b}$ , e  $\alpha_{2c}$ , conforme sua ação farmacológica e em  $\alpha_{2C10}$ ,  $\alpha_{2C2}$  e  $\alpha_{2C4}$  conforme a localização cromossômica dos genes que os codificam e correspondem aos receptores  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  e  $\alpha_{2C}$ .

Os receptores  $\alpha_2$  pré-juncionais são principalmente os  $\alpha_{2A}$  embora possam estar presentes também os  $\alpha_{2C}$ . Eles inibem a liberação de noradrenalina nas terminações nervosas simpáticas e nas sinapses noradrenérgicas do sistema nervoso central. Todos os três subtipos de receptores podem ser identificados nas terminações pré-sinápticas dos músculos lisos dos vasos e promovem vasoconstricção, sendo que os  $\alpha_{2C}$  estão localizados principalmente nas veias. São encontrados em vários órgãos tais como: fígado, plaquetas, rins, tecido adiposo e olhos promovendo variadas funções fisiológicas.

O receptor  $\alpha_2$  adrenérgico é um receptor transmembrana funcionalmente acoplado à proteína G sensível à toxina pertussis. Sua ação pré-sináptica ocorre principalmente por inibição dos canais de cálcio e ativação dos canais de potássio. Uma vez estimulado, o receptor  $\alpha_2$  adrenérgico promove bloqueio funcional da adenilciclase diminuindo a formação de AMPc.

A dexmedetomidina liga-se também a receptores imidazolínicos, localizados no cérebro, rins e pâncreas. A ativação destes receptores leva a hipotensão arterial de origem central e efeitos anti-arrítmicos.

A meia-vida de distribuição em seres humanos é de 9 minutos e a de eliminação de 2,25 horas. 94% da dexmedetomidina liga-se a proteínas plasmáticas e é metabolizada no fígado e eliminada após metilação e glicuronidação principalmente pelos rins.

Em dezembro de 1988, Segal e cols. publicaram um trabalho em que demonstraram em ratos uma ação anestésica da dexmedetomidina, o componente dextrógiro ativo da medetomidina um anestésico de emprego veterinário, que agora, isoladamente do seu isômero levógiro apresentou uma capacidade plena de promover status anestésico como droga única para a realização de uma intervenção cirúrgica. Desde então o volume de estudos na literatura sobre o emprego de  $\alpha_2$ agonistas em anestesia tem crescido em número e diversidade sofrendo revisões periódicas em publicações voltadas à prática clínica; algumas boas revisões estão disponíveis pelos seguintes autores: Khan et al. (1999), Kamibayashi et al. (2000) e Scholz et al. (2000).

A ações da dexmedetomidina vão desde efeito descongestionante nasal passando por antihipertensivo, antiarrítmico, supressor de tremores e, relevantemente para nós, efeito anestésico geral em todos seus componentes básicos (a saber: hipnose e amnésia, analgesia, relaxamento muscular e bloqueio autonômico). Este espectro de ações gera por si só um novo paradigma, pois não é compartilhado por nenhuma droga disponível no arsenal farmacológico em anesthesiologia o que torna este agonista  $\alpha_2$ adrenérgico uma real novidade com muitas nuances a serem exploradas.

A sua aprovação para uso em humanos pelo FDA (E.E.U.U.) em dezembro 1999 desencadeou uma nova onda de interesse sobre seus possíveis usos clínicos os quais incluem: pré-medicação anestésica, tratamento da dor crônica, sedação pré e pós operatória e na unidade de terapia intensiva bem como coadjuvante em anestesia.

Segundo Shelly et al. (2001) a dexmedetomidina é uma droga segura do ponto de vista respiratório e hemodinâmico sem compartilhar os efeitos paradoxais de taquifilaxia e dependência comuns aos benzodiazepínicos, o que a qualificaria como uma boa indicação para sedação de longo prazo em terapia intensiva.

## **1.2.1 Bolsão inflamatório e a avaliação da resposta imune inata**

Descrito originalmente por Selye et al. (1953), o modelo do bolsão de ar tem sido usado para estudo tanto dos mecanismos subjacentes à resposta inflamatória como a vários

tratamentos anti-inflamatórios. A equipe do laboratório de imunoparasitologia do CPqGM vem usando este modelo com sucesso em ensaios experimentais que avaliam o recrutamento precoce de leucócitos em circunstâncias de estímulo com LPS concomitante à inoculação de antígenos salivares de flebotomíneos dentro de um programa de investigação do papel da resposta imune inata e sua interação com a saliva do flebotomíneo no estabelecimento da infecção pela *Leishmania sp.* Os ensaios previamente realizados nos orientaram a cerca do momento ideal para coleta do lavado do bolsão em torno de 12 a 14 horas pós indução (Perretti et al. e Matte et al).

## **2 JUSTIFICATIVA**

A resposta inadequada ao estresse pós-operatório e no paciente crítico vem se constituindo em alvo terapêutico desde o surgimento das primeiras evidências de disfunção orgânica relacionada ao esforço adaptativo diante da agressão.

Tem-se tomado cada vez mais claro o papel do inimigo interno, caracterizado pela resposta inadequada ao estresse, como uma disfunção extra a ser tratada tanto no pós-operatório das grandes intervenções cirúrgicas como nos períodos de internações prolongadas que se acompanham de vários procedimentos invasivos na unidade de terapia intensiva.

Desvios da função imune são muito comuns em pacientes de clínica cirúrgica e terapia intensiva freqüentemente evoluem para extremos de imunossupressão ou de hiperatividade inflamatória. Estas condições uma vez instaladas passam a representar uma nova co-morbidade capaz de retardar recuperação clínica e propiciar novas disfunções e, ou infecções oportunistas.

O ambiente cirúrgico e de terapia intensiva é farto em gatilhos para disfunção imune capazes de influir decisivamente na evolução clínica de pacientes imunossuprimidos ou sob acometimento de síndrome de resposta inflamatória sistêmica. Alguns destes gatilhos são facilmente desativáveis ou de simples atenuação, outros no entanto, demandam conhecimento de seus mecanismos subjacentes para otimização da abordagem clínica. Entre os mais comuns poderiam ser citados: drogas anestésicas

(Salo et al., 1992; Stevenson et al., 1990), transfusão sanguínea (Klein et al., 1999;), hipotermia (Ben-Eliyahu et al., 1999) e estresse psicológico (Andersen et al., 1998). A resposta neuroendócrina à agressão orgânica nestes casos tem sido considerada como fator adicional de grande importância (Tonnesen et al., 1989; Weissman et al., 1990; Kehlet et al., 1997). As intervenções que visam interromper ou atenuar a cadeia de eventos que leva à disfunção da resposta adaptativa ao estresse têm se mostrado valiosas em manter a funcionalidade imunológica; uma característica freqüente nestas intervenções é a ação sobre o sistema nervoso autônomo que se mostra como um dos primeiros elos da seqüência de ativação (Sanders et al., 2002).

Estabilizar a função imune diante da ação dos componentes primários e secundários de situações de estresse orgânico é um objetivo terapêutico dos mais importantes para a aceleração da recuperação do paciente crítico e profilaxia de complicações secundárias. O presente estudo se propõe a documentar o papel de duas abordagens farmacológicas distintas sobre o perfil de recrutamento celular induzido por LPS no modelo de bolsão inflamatório.

## **3 HIPÓTESE**

---

A nossa hipótese é a de que a dexmedetomidina por sua ação agonista  $\alpha_2$ adrenérgicos interfere sobre a resposta inflamatória imediata sendo capaz de alterar o perfil de recrutamento leucocitário em sítios de estimulação com LPS em ratos.

## **4 OBJETIVOS**

---

### **4.1 GERAL**

Investigar o efeito de drogas anestésicas de uso clínico corrente sobre a função imune em animais de experimentação no âmbito de um curso de mestrado.

## **4.2 ESPECÍFICOS**

Verificar o efeito da dexmedetomidina sobre o recrutamento celular precoce em sítio de estimulação com LPS quando usada como droga anestésica única em ratos submetidos ou não a laparotomia prévia comparando-o com a resposta imune padrão em animais não expostos a drogas anestésicas e a animais submetidos a anestesia sob halotano por via inalatória.

## **5 Material e métodos**

Após aprovação pela comissão de ética no uso de animais do CPqGM, foi iniciada a montagem do centro cirúrgico em sala isolada dentro da estrutura do biotério do CPqGM; os materiais específicos foram: a) anestésicos: halotano (Fluothane, Lab. Cristália), obtido através de compra direta de fornecedores de medicação locais, e Dexmedetomidina (gentilmente cedida pela representação local do Precedex, Abbott Labs), b) material cirúrgico comum: lâminas, fios, pinças, seringas, agulhas etc, c) material para administração dos anestésicos e realização das intervenções: placa homeotérmica para profilaxia da hipotermia, câmara de plexiglass com 4 subcâmaras para evitar o estresse de manipulação durante o período de indução anestésica, cilindro de oxigênio com fluxômetro e mangueiras, vaporizador calibrado agente específico para halotano gentilmente cedido para os experimentos pelo Eng<sup>o</sup> Varlando, Chefe da divisão de equipamentos do Hospital Aliança S.A. de Salvador. O sacrifício dos animais em câmara de CO<sub>2</sub> e a rinsagem do bolsão para coleta do lavado era realizado 12 a 14 horas após a indução do bolsão por ser este o período necessário para o pico de recrutamento de leucócitos dentro do bolsão como determinado em ensaios prévios pela equipe do laboratório.

### **Animais**

Ratos Wistar machos pesando entre 180 e 220gr e de mesma idade (Biotério do CPqGM – Salvador, Bahia) foram acondicionados em gaiolas apropriadas com livre acesso a ração e água em ambiente com temperatura estável (22-24°C ) e com ciclos de

luz e escuridão de 12 horas. Todos os experimentos foram conduzidos entre 17:00 e 20:00. O presente estudo foi aprovado pela comissão institucional de ética no uso de animais (CEUA –CPqGM).

### **Desenho experimental**

Cinquenta animais foram alocados randomicamente em cinco grupos: um grupo controle (Grupo C), dois grupos de animais a serem submetidos a uma laparotomia simples, com 20 minutos de exposição das alças intestinais ao ar ambiente, sob anestesia: um deles por halotano 1,5% por via inalatória (Grupo CH) e outro por dexmedetomidina 100µg i.p. (Grupo CD) e, dois grupos a serem submetidos apenas a anestesia: um por halotano (Grupo AH) e o outro por dexmedetomidina (Grupo AD) nas mesmas dosagens, sem nenhuma manipulação cirúrgica.

Em todos os grupos os animais foram submetidos à realização de um bolsão de ar dorsal com estímulo de LPS. Nos grupos de animais apenas anestesiados o bolsão foi realizado após 20 minutos de exposição às drogas anestésicas e, nos grupos submetidos a cirurgia e anestesia, ao final da laparotomia. Doze horas após a realização do bolsão os animais foram sacrificados com subsequente rinsagem do bolsão e da cavidade peritoneal para coleta de material destinado a quantificação da celularidade recrutada.

## **5.1 e 5.2: Fármacos e Anestesia**

### **A . Indução e manutenção da anestesia:**

Quatro grupos de animais foram designados para serem submetidos a anestesia: dois com dexmedetomidina (Abbott Laboratories) 100 microgramas via intraperitoneal ao que se seguia contagem de 20 minutos para o início dos testes de validação de status anestésico como relatado por Horváth, Gyöngyi e cols (1992) e dois grupos com Halotano (Laboratórios Cristália) a 1,5% de fração inspirada (vaporizador Dräger agente específico) em câmara de plexiglass transparente até desaparecimento de movimentação espontânea quando eram retirados para serem testados quanto à profundidade da anestesia e mantidos sob suplementação de anestésico e oxigênio

administrados por cone cefálico como forma de manutenção do status anestésico em condições estáveis ao longo do período de exposição pré-determinado.

#### B. Status anestésico:

Após o tempo pré-estabelecido acima para cada droga os animais eram submetidos a validação do procedimento anestésico em teste com placa aquecida (tempo de permanência do animal sobre placa a 52°C até a eliciação de reflexo de lambr a pata com 20 segundos de tempo de corte para definição de status anestésico e retirada do animal do teste) e pela perda do reflexo postural. Os animais foram mantidos anestesiados em respiração espontânea.

No grupo controle a indução do bolsão era realizada sob breve imobilização sem nenhum tipo de intervenção prévia.

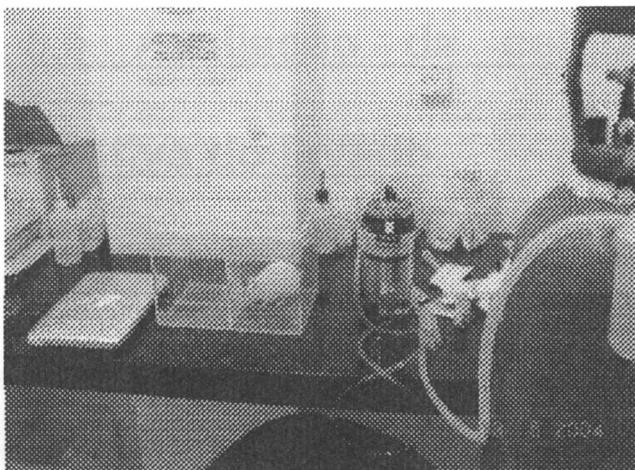


Fig. 1: Vê-se ao lado um animal do grupo AH dentro da câmara de indução anestésica conectada ao vaporizador e à fonte de oxigênio

## **5.3 Laparotomia**

Os grupos CH e CD foram submetidos a laparotomia simples: após a indução e validação anestésica era realizada tricotomia e assepsia com álcool a 70° da região ventral do abdome. O acesso à cavidade peritoneal foi obtido através de incisão suprapúbica de 4 cm de extensão na linha média após o que era realizada a externalização das alças intestinais por um período de 20 minutos com exposição ao ar ambiente. A duração total do procedimento foi de no máximo 40 minutos entre a incisão e o último ponto da sutura da parede abdominal com fio cirúrgico de nylon 3-0.

A analgesia pós-operatória foi obtida com morfina 0,1% em dose de 5mg i.p. imediatamente após a finalização da cirurgia.

## **5.4 Indução do bolsão**

A indução do bolsão foi realizada através de injeção subcutânea em região dorsal sub-occipital, 1 hora após o final do período de manipulação, com salina + LPS (100ng/ml) em 1 ml de volume de solução + 9 ml de ar em injeção simultânea. Os animais se recuperaram em ambiente escuro, aquecido e silencioso até o início da etapa seguinte.

Doze horas após a indução do bolsão, os animais eram sacrificados (por narcose carbônica com posterior evisceração) e então se procedia a coleta do material a ser analisado.

## **5.5 Avaliação da celularidade absoluta e relativa do lavado.**

O conteúdo do bolsão foi lavado in situ com 10 ml de salina e aspirado a seguir para a coleta dos leucócitos do exsudato. A contagem totalizadora foi feita em câmara de Neubauer sob microscopia.

A celularidade diferencial do exsudato foi estabelecida com uso de preparação para Cytospin coradas com Diff-Quick (Baxter).

## **5.6 Avaliação do lavado peritoneal**

Diante da possibilidade de que um efeito agonista  $\alpha_1$ adrenérgico pudesse determinar restrição no recrutamento celular do bolsão nos grupos AD e CD por efeito vasomotor (vasoconstricção), decidiu-se pela totalização absoluta e relativa do lavado peritoneal de todos animais visando excluir este efeito que por certo também ocorreria na cavidade peritoneal. O lavado foi colhido a partir do retorno da injeção de 20 ml de salina em fossa ilíaca esquerda e colhido em fossa ilíaca direita. Os achados nos permitiriam estabelecer ou excluir a participação de uma ação vasoconstrictora da dexmedetomidina

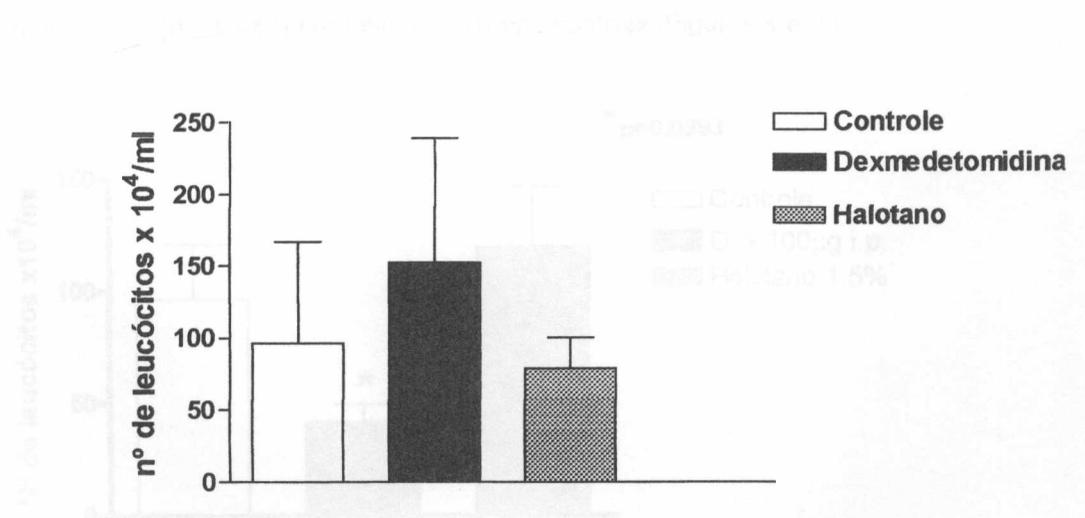
sobre o recrutamento celular no bolsão caso fosse observada uma alteração paralela na celularidade do lavado peritoneal dos grupos tratados com dexmedetomidina em relação ao grupo controle.

## 6 Análise estatística

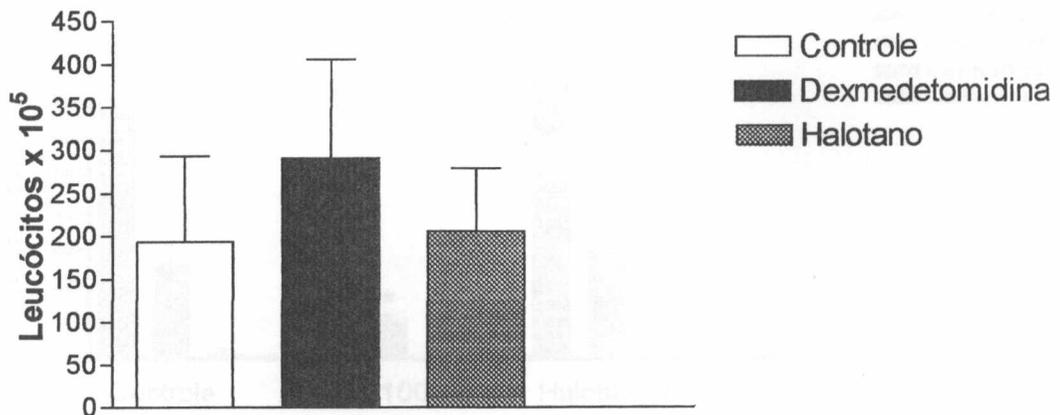
Os dados foram analisados por teste t bicaudal não pareado e apresentados como média +/- SEM através do programa de análise estatística integrante do pacote GraphPad Prism, versão 4.00. Foram julgados estatisticamente significativos os valores de  $p < 0,05$ . Os resultados significativos em relação ao grupo controle estão marcados com asterisco nos gráficos.

## 7 RESULTADOS

A contagem celular do lavado peritoneal e do bolsão dorsal foi realizada 12 horas após a indução do bolsão a partir do material de retorno da rinsagem das cavidades estudadas. Não foram observadas diferenças significativas nas contagens absolutas e relativas do lavado do bolsão e do peritônio entre os grupos de animais anestesiados e submetidos à laparotomia e o grupo controle e (Figuras 2 e 3)

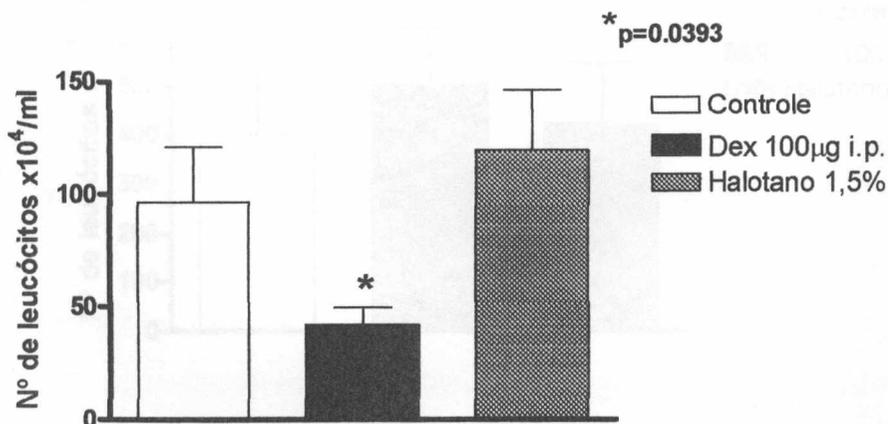


**Fig. 2** – Número total de leucócitos acumulados no exsudato do bolsão dorsal 12 horas após a injeção de ar e LPS nos animais do grupo controle e nos submetidos a laparotomia sob anestesia com halotano 1,5% via inalatória ou dexmedetomidina 100µg i.p. e cirurgia.

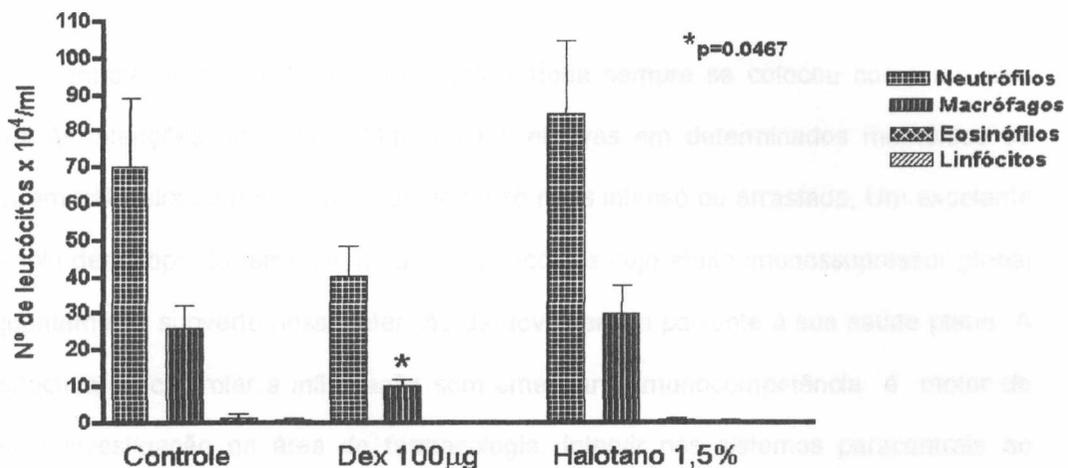


**Fig. 3** – Número total de leucócitos obtidos a partir da lavagem da cavidade peritoneal 12 horas após a realização do bolsão nos animais do grupo controle e nos submetidos a laparotomia sob anestesia com halotano 1,5% via inalatória ou dexmedetomidina 100µg i.p. e cirurgia.

O lavado do bolsão dorsal obtido a partir do grupo de animais apenas anestesiados (sem cirurgia) com dexmedetomidina 100 µg i.p. apresentou uma significativa redução no total de células recrutadas ( $p = 0,0393$ ) que se revelou na contagem diferencial ocorrer às custas de uma significativa redução no recrutamento de macrófagos ( $p = 0,467$ ) em relação ao grupo controle (Figuras 4 e 5)

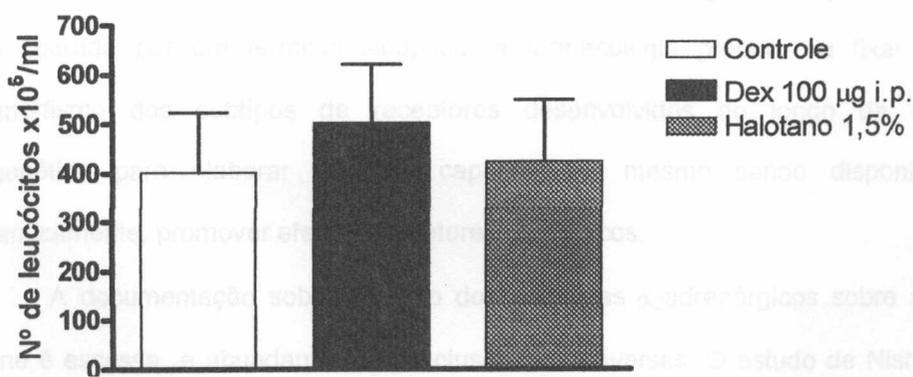


**Fig. 4** – Número total de leucócitos acumulados no exsudato do bolsão dorsal 12 horas após a injeção de ar e LPS nos animais do grupo controle e nos submetidos a apenas a anestesia (não operados) com dexmedetomidina 100µg i.p ou halotano 1,5% via inalatória (o asterisco marca os dados com diferença significativa em relação ao grupo controle)



**Fig. 5**– Contagem diferencial do número de leucócitos acumulados no exsudato do bolsão dorsal 12 horas após a injeção de ar e LPS nos animais do grupo controle e nos submetidos a apenas a anestesia ( não operados) com dexmedetomidina 100µg i.p ou halotano 1,5% via inalatória. O asterisco marca o tipo celular cuja contagem mostrou diferença significativa em relação ao grupo controle (subpopulação de macrófagos).

A contagem absoluta e diferencial dos leucócitos obtidos a partir da lavagem da cavidade peritoneal dos animais apenas anestesiados não mostrou diferença significativa em relação ao grupo controle (Figura 6)



**Fig. 6** – Número total de leucócitos obtidos a partir da lavagem da cavidade peritoneal 12 horas após a realização do bolsão nos animais do grupo controle e nos submetidos apenas a anestesia (não operados) com halotano 1,5% via inalatória ou dexmedetomidina 100µg i.p.

## 8 Discussão

O controle do curso da resposta inflamatória sempre se colocou como um alvo móvel às intenções do clínico. Ferramentas efetivas em determinados momentos se mostram traiçoeiras em enfermidades de curso mais intenso ou arrastado, Um excelente exemplo deste tipo de ferramenta são os corticóides cujo efeito imunossupressor global freqüentemente subverte nossa intenção de devolver um paciente à sua saúde plena. A perspectiva de controlar a inflamação sem ameaçar a imunocompetência é motor de intensa investigação na área de farmacologia. Intervir nos sistemas paracentrais ao evento inflamatório passou a ser um foco privilegiado de investigação uma vez que parece ser nestes sistemas que amplificações indevidas na resposta inflamatória passam a gerar fenômenos intensos de retroalimentação que prolongam a resposta inflamatória, seus sintomas incapacitantes e a disfunção do órgão afetado.

A ubiqüidade da presença de receptores noradrenérgicos em praticamente todos subsistemas orgânicos faz destes um alvo privilegiado no tratamento de várias condições principalmente algumas de repercussão sistêmica como a inflamação. Para contornar o salto evolutivo obtido pela natureza com o desenvolvimento da sinalização sináptica na qual a mesma molécula é usada para codificar várias mensagens a depender de onde seja liberada por um terminal sináptico, a farmacologia procura se fixar sobre o polimorfismo dos subtipos de receptores desenvolvidos ao longo da evolução filogenética para elaborar fármacos capazes de, mesmo sendo disponibilizados sistemicamente, promover efeitos em setores específicos.

A documentação sobre o efeito dos agonistas  $\alpha_2$ adrenérgicos sobre a função imune é escassa e abundante em conclusões controversas. O estudo de Nishina et al (1999) realizado com neutrófilos humanos *ex vivo* concluiu pela inocuidade de efeitos da dexmedetomidina sobre vários aspectos da função dos neutrófilos como: quimiotaxia, fagocitose e produção de superóxido. Este estudo foi citado em muitas revisões recentes sobre o tema agonistas  $\alpha_2$ adrenérgicos no subtópico relativo aos seus efeitos sobre o sistema imune e apontava para um caminho de poucos resultados para quem se decidisse a investigar o tema. Venn et al (2001) publicaram um estudo com pacientes em

unidade de terapia intensiva e concluíram pela inocuidade da dexmedetomidina sobre inclusive esteroidogênese adrenal e sobre a resposta inflamatória embora notificasse ao final do manuscrito que o consistente declínio nos níveis séricos de interleucina 6 no período pós-operatório, quando se espera justamente o contrário, poderia ser um indício de atividade anti-inflamatória nos pacientes sedados com dexmedetomidina que não foi significativa pela limitação do tamanho da amostra.

Em dois estudos que ilustram muito bem a complexidade do tema, Boomershine et al. (1999) mostraram uma redução na produção de óxido nítrico em macrófagos infectados por *Mycobacterium avium* quando expostos a agonismo  $\beta$ adrenérgico enquanto Weatherby et al. (2003) mostraram um efeito inverso diante da exposição de macrófagos ao agonismo  $\alpha_2$ adrenérgico.

Em 2004, Taniguchi et al. publicaram um estudo documentando o papel da dexmedetomidina sobre a mortalidade em ratos num modelo de choque séptico e mostraram uma diminuição na mortalidade no grupo de animais tratados. Foi documentada uma diminuição na produção de  $TNF\alpha$  e interleucina 6 que parece ter desempenhado papel determinante na gênese dos resultados. Os autores chamam atenção para a capacidade de redução na produção de citocinas desencadeada por LPS nos animais tratados com agonista  $\alpha_2$ adrenérgico. Aos mesmos resultados chegaram também Maes et al. em estudo que se propôs a investigar o efeito do agonismo adrenérgico sobre a produção de citocinas por macrófagos.

Os resultados observados em nosso estudo no grupo de animais tratados com dexmedetomidina e não operados evidenciam um efeito anti-inflamatório da dexmedetomidina quando usado em doses anestésicas em ratos sob estímulo inflamatório por LPS. Este efeito anti-inflamatório ocorreu principalmente às custas da redução de recrutamento de macrófagos para o sítio de estímulo com redução significativa em relação ao grupo controle. O efeito anti-inflamatório desapareceu completamente nos animais submetidos à laparotomia possivelmente como consequência da liberação maciça de mediadores inflamatórios, citocinas e catecolaminas. Estes achados poderiam ser explicados em seu conjunto por uma ação

anti-inflamatória via agonismo  $\alpha_2$ adrenérgico pela dexmedetomidina que foi insuficiente para suplantiar os efeitos pró-inflamatórios do agonismo  $\beta_2$ adrenérgico promovido pelo estresse cirúrgico e pela liberação de mediadores e citocinas causada pelo trauma cirúrgico e também potencializada pelas catecolaminas.

A redução no recrutamento de macrófagos é compatível com um ambiente de produção diminuída de  $\text{TNF}\alpha$  e interleucina 6 como consequência do agonismo  $\alpha_2$ adrenérgico.

Em 2003 foi publicado um ensaio clínico no qual Pekka et al verificaram uma ação farmacológica da dexmedetomidina que era divergente nos seus efeitos sobre a hemodinâmica caso o paciente estivesse anestesiado ou não (ou seja, com ativação simpática de fundo ou não) e mostraram que nos pacientes anestesiados ocorria vasoconstrição periférica enquanto que nos acordados ocorria vasodilatação em doses clinicamente recomendadas o que sugeria um efeito de interação entre a ação da droga e o tônus simpático basal do paciente tratado. Objetivando excluir a possibilidade de a dexmedetomidina determinar anti-recrutamento por simples vasoconstrição (mecanismo  $\alpha_1$ ) foi realizada a contagem do lavado peritoneal que poderia sugerir, caso mostrasse paralelismo com as contagens do bolsão, a ocorrência de efeito antirecrutante por vasoconstrição.

As contagens feitas a partir do lavado peritoneal não mostraram diferenças significativas em relação ao grupo controle e afastam a possibilidade de interferência de um efeito vasomotor nos resultados observados.

## **9 Conclusão**

A nossa conclusão é que a dexmedetomidina apresenta ação anti-inflamatória em ratos quando usado como agente único em doses anestésicas em circunstâncias de estresse leve a moderado.

## **10 Perspectivas futuras**

Os resultados do presente estudo serão complementados em período de doutorado com a investigação dos mecanismos envolvidos nos efeitos observados. Para

tal foi planejado um desdobramento que inclui o mapeamento da ativação de gens de expressão precoce nos sítios preferenciais de ação da dexmedetomidina no sistema nervoso central, quantificação da participação do agonismo central e periférico nos efeitos observados, investigação do padrão de citocinas na parede do bolsão, avaliação de efeitos com administração simultânea de beta-bloqueadores e ensaios com o antagonista específico: atipamezole gentilmente cedido pela divisão Novartis de Turku, Finlândia através de seu representante Dr. Raimo Virtanen.

## 10 Referências bibliográficas

- Ader R, Cohen N. Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosom. Med*; 1975. 37: 333-40.
- Andersen BL, Farrar WB, Golden-Kreutz D, Kutz LA, MacCallum R, Courtney ME, Glaser R. Stress and immune responses after surgical treatment for regional breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:30-6
- Ben-Eliyahu S, Page GG, Yirmiya R, Shakhar G. Evidence that stress and surgical interventions promote tumor development by suppressing natural killer cell activity. *Int J Cancer* 1999; 80: 880-8
- Ben-Eliyahu S, Shakhar G, Rosenne E, Levinson Y, Beilin B. Hypothermia in anesthetized rats suppresses natural killer cell activity and compromises resistance to tumor metastasis: A role for adrenergic mechanisms. *Anesthesiology* 1999; 91: 732-40.
- Ben-Eliyahu S, Shakhar G, Page GG, Stefanski V, Shakhar K. Suppression of NK cell activity and of resistance to metastasis by stress: A role for adrenal catecholamines and beta-adrenoceptors. *Neuroimmunomodulation* 2000; 8: 154-164.
- Bishopric N H, Cohen HJ, Lefkowitz RJ. Beta-adrenergic receptors in lymphocyte subpopulations. *J Allergy Clin Immunol* 1980; 65: 29-33.
- Boomershine, C S, Lafuse W P, Zwilling B S,  $\beta$ 2-Adrenergic receptor stimulation inhibits nitric oxide generation by *Mycobacterium avium* infected macrophages. *J Neuroimmunol* 1999; 101, 68-75.
- Borger P, Jonker GJ, Vellenga E, Postma DS, De Monchy JG, Kauffman HF. Allergen challenge primes for IL-5 mRNA production and abrogates beta-adrenergic function in peripheral blood T lymphocytes from asthmatics. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 933-40.
- Crofford LJ, Jacobson J, Young E. Modeling the involvement of the hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes in autoimmune and stress-related rheumatic syndromes in women. *J Women's Health* 1999; 8: 203-15.
- Dobbs CM, Vasquez M, Glaser R, Sheridan JF. Mechanisms of stress-induced modulation of viral pathogenesis and immunity. *J Neuroimmunol* 1993; 48: 151-160.
- Edwards JC, Sedgwick AD, Willoughby DA. The formation of a structure with features of synovial lining by subcutaneous injection of air: an in vivo tissue culture system. *J Pathol* 1981; 134: 147-156.
- Fehder WP. Alterations in immune response associated with anxiety in surgical patients. *CRNA* 1999; 10: 124-29.
- Felten SY, Felten DL. Innervation of lymphoid tissue. In: Ader R, Felten DL, Cohen N, editors. *Psychoneuroimmunology* 2<sup>nd</sup> ed. New York: Academic Press; 2001. p. 27-70.
- Fleshner M. Exercise and neuroendocrine regulation of antibody production: protective effect of physical activity on stress-induced suppression of the specific antibody response. *Int J Sports Med* 2000; 21: S14-S19.
- Gabriel HH, Kindermann W. Adhesion molecules during immune response to exercise. *Can J Physiol Pharmacol* 1988. 76: 512-23.

- Glaser R, Kiecolt-Glaser JK, Marucha PT, MacCallum RC, Laskowski BF, Malarkey WB. Stress-related changes in proinflammatory cytokine production in wounds. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56: 450-456.
- Hadden JW, Hadden EM, Middleton E. Lymphocyte blast transformation. I. Demonstration of adrenergic receptors in human peripheral lymphocytes. *Cell Immunol* 1970; 1: 583-95.
- Horváth G, Szikszay M, Rubicsek G, Benedek G. An isobolographic analysis of the hypnotic effects of combinations of dexmedetomidine with fentanyl or diazepam in rats. *Life Sci* 1992; 50: 215-20.
- Jonsdottir IH, Johansson C, Asea A, Hellstrand K, Hoffmann P. Acute mental stress but not enforced muscle activity transiently increases natural cytotoxicity in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 1996; 157: 443-49.
- Kamibayashi T, Maze M. Clinical Uses of alpha-2-adrenergic agonists. *Anesthesiology* 2000; 93: 1345-9.
- Kelbel I, Weiss M. Anaesthetics and immune function. *Curr Opin Anaesth* 2001; 14: 685-91.
- Kehlet H. Multimodal approach to control postoperative pathophysiology and rehabilitation. *Br J Anaesth* 1997; 78: 606-17
- Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. Alpha-2 and imidazoline receptor agonists: Their pharmacology and therapeutic role. *Anaesthesia* 1999; 54: 146-65.
- Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Cacioppo JT, Malarkey WB. Marital stress: immunologic, neuroendocrine, and autonomic correlates. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 840: 656-63.
- Klein HG. Immunomodulatory aspects of transfusion: a once and future risk? *Anesthesiology* 1999; 91: 861-5.
- Kohm AP, Sanders VM. Norepinephrine: a messenger from the brain to the immune system. *Immunol Today* 2000; 21: 539-42.
- Liu S, Carpenter RL, Neal JM: Epidural anesthesia and analgesia. Their role in postoperative outcome. *Anesthesiology* 1995; 82: 1474-506.
- Loveland BE, Jarrott B, McKenzie IFC. The detection of beta-adrenoceptors on murine lymphocytes. *Int J Immunopharmacol* 1981; 3: 45-55.
- Lundy J. Anesthesia and surgery: a double-edged sword for the cancer patient. *J Surg Oncol* 1980; 14: 61-5.
- Lyte M, Ernst S. Catecholamine induced growth of gram negative bacteria. *Life Sci* 1992; 50: 203-12.
- Madden KS, Stevens SY, Felten DL, Bellinger DL Alterations in T lymphocyte activity following chemical sympathectomy in young and old Fischer 344 rats. *J Neuroimmunol* 2000; 103: 131-45.
- Maes, M, Lin A, Kenis G, Egedy B, Bosmans E, The effects of noradrenaline and alpha-2 adrenoceptor agents on the production of monocytic products. *Psychiatry Res* 2000; 96, 245-253.
- Matte C, Olivier M. Leishmania-Induced cellular recruitment during early inflammatory response: Modulation of proinflammatory mediators. *J Infect Dis* 2002; 185: 673-81.
- Meltzer JC, Grimm PC, Greenberg AH, Nance DM. Enhanced immunohistochemical detection of autonomic nerve fibers, cytokines and inducible nitric oxide synthase by light and fluorescent microscopy in rat spleen. *J Histochem Cytochem* 1997; 45: 599-10.

- Miller LE, Justen HP, Scholmerich J, Straub RH. The loss of sympathetic nerve fibers in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis is accompanied by increased norepinephrine release from synovial macrophages. *FASEB J* 2000; 14: 2097-107.
- Nishina K, Akamatsu H, Mikawa K, Shiga M, Maekawa N, Obara H, Niwa Y. The inhibitory effects of thiopental, midazolam, and ketamine on human neutrophil functions. *Anesth Analg* 1998; 86: 159-65.
- Nishina K, Akamatsu H, Mikawa K, Shiga M, Maekawa N, Obara H, Niwa Y. The effects of clonidine and dexmedetomidine on human neutrophil functions. *Anesth Analg* 1999; 88: 452-58.
- Panuncio AL, De La Pena S, Gualco G, Reissenweber N. Adrenergic innervation in reactive human lymph nodes. *J Anat* 1999; 194: 143-46.
- Talke P, Lobo E, Brown R. Systemically administered alpha2-agonist-induced peripheral vasoconstriction in humans. *Anesthesiology* 2003; 99: 65-70.
- Perretti M, Flower RJ. Modulation of IL-1-induced neutrophil migration by dexamethasone and lipocortin 1. *J Immunol* 1993; 150: 992-99.
- Pollock RE, Lotzova E, Stanford SD. Surgical stress impairs natural killer cell programming of tumor for lysis in patients with sarcomas and other solid tumors. *Cancer* 1992; 70: 2192-202.
- Rozlog LA, Kiecolt-Glaser JK, Marucha PT, Sheridan JF, Glaser R. Stress and immunity: Implications for viral disease and wound healing. *J Periodontol* 1999; 70: 786-92.
- Salo M. Effects of anaesthesia and surgery on the immune response. *Acta Anaesthesiol Scand* 1992; 36: 201-20.
- Sanders VM, Straub RH. Norepinephrine, the beta-adrenergic receptor and immunity. *Brain Behav Immun* 2002; 16: 290-332.
- Sanders VM, Kasprovicz DJ, Kohm AP, Swanson MA. Neurotransmitter receptors on lymphocytes and other lymphoid cells. In: Ader R, Felten DL, Cohen N, editors. *Psychoneuroimmunology* 3<sup>rd</sup> ed. New York : Academic Press; 2001. p. 161-96.
- Scholz J, Tonner PH. Alpha-2 adrenoceptor agonists in anaesthesia: a new paradigm. *Curr Opin Anaesth* 2000; 13: 437-42.
- Segal IS, Vickery RG, Walton JK, Doze VA, Maze M. Dexmedetomidine diminishes halothane anesthetic requirements in rats through a postsynaptic alpha 2 adrenergic receptor. *Anesthesiology* 1988; 69: 818-23.
- Selye H. On the mechanism through which hydrocortisone affects the resistance of tissues to injury: an experimental study with the granuloma pouch technique. *JAMA* 1953; 152:1207-13.
- Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 1936; 138: 132.
- Selye H 1946. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J Clin Endocrinol*; 6: 117-230.
- Shakhar G, Ben-Eliyahu S. In vivo beta-adrenergic stimulation suppresses natural killer activity and compromises resistance to tumor metastasis in rats. *J Immunol* 1998; 160: 3251-58.
- Shelly MP. Dexmedetomidine: a real innovation or more of the same? *Br J Anaesth* 2001; 87: 677-78.
- Sheridan J F, Dobbs C, Jung J, Chu X, Konstantinos A, Padgett D, et al. Stress-induced neuroendocrine modulation of viral pathogenesis and immunity. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 840: 803-8.

Shimizu N, Kaizuka Y, Hori T, Nakane H. Immobilization increases norepinephrine release and reduces NK cytotoxicity in spleen of conscious rat. *Am J Physiol* 1996; 271: R537–R544.

Solomon, G. F., & Moos, R. H. (1964). Emotions, immunity, and disease: A speculative theoretical integration. *Arch. Gen. Psychiatry* 11, 657–674.

Stevenson G, Hall SC, Rudnick S, Seleny FL, Stevenson HC. The effects of anesthetic agents on the human immune response. *Anesthesiology* 1990; 72: 542–52.

Straub RH, Schaller T, Miller LE, von Horsten S, Jessop DS, Falk W, et al. Neuropeptide Y cotransmission with norepinephrine in the sympathetic nerve–macrophage interplay. *J Neurochem* 2000; 75: 2464–71.

Straub RH, Linde HJ, Mannel DN, Schoimerich J, Falk W. A bacteria-induced switch of sympathetic effector mechanisms augments local inhibition of TNF-alpha and IL-6 secretion in the spleen. *FASEB J* 2000; 14: 1380-8.

Tait AR, Davidson BA, Johnson KJ, Remick DG, Knight PR. Halothane Inhibits the intraalveolar recruitment of neutrophils, lymphocytes, and macrophages in response to influenza virus infection in mice. *Anesth Analg* 1993; 76: 1106-13.

Taniguchi T, Kidani Y, Kanakura H, Takemoto Y, Yamamoto K. Effects of dexmedetomidine on mortality rate and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2004; 32: 1322-6.

Tessier PA, Naccache PH, Diener KR, Gladue RP, Neote KS, Clark-Lewis I, et al. Induction of acute inflammation in vivo by staphylococcal superantigens. II. Critical role for chemokines, ICAM-1, and TNF-alpha. *J Immunol* 1998; 161: 1204-11.

Tonnesen E. Immunological aspects of anaesthesia and surgery—with special reference to NK cells. *Dan Med Bull* 1989; 36: 263–81.

Weatherby, KE, Zwilling, BS, Lafuse WP Lafuse WP. Resistance of macrophages to *Mycobacterium avium* is induced by  $\alpha$ 2-adrenergic stimulation. *Infection and Immunity* 2003; 71: 22-29

Weissman C. The metabolic response to stress: an overview and update. *Anesthesiology* 1990; 73: 308–27.

Woods J A. Exercise and neuroendocrine modulation of macrophage function. *Int J Sports Med* 2000; 21, S24–S30.