

**Marcia da Silveira Charneca Vaz**

**A Influência de Três Técnicas Anestésicas na  
Resposta Imunológica do Idoso**

**Fundação Oswaldo Cruz  
Escola Nacional de Saúde Pública**

**Rio de Janeiro - RJ**

**1998**

# **A INFLUÊNCIA DE TRÊS TÉCNICAS ANESTÉSICAS NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DO IDOSO**

**MARCIA DA SILVEIRA CHARNECA VAZ**

**Instituição: Fundação Oswaldo Cruz;  
Escola Nacional de Saúde Pública.**

**Tese apresentada à Fundação Oswaldo Cruz; Escola Nacional de Saúde Pública, Área de Concentração Saúde do Idoso, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor.**

**Orientador: Professor Doutor Mario Antônio Sayeg**

**Cargo: Pesquisador Titular da Escola Nacional de Saúde Pública.**

**Rio de Janeiro**

**Dezembro, 1998**

**FICHA CATALOGRÁFICA**

VAZ, Marcia da Silveira Charneca.

A Influência de Três Técnicas Anestésicas na Resposta Imunológica do Idoso.

Dissertação (Doutorado), Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública - Rio de Janeiro, RJ, 1998.

228 Folhas

1. Anestesia
2. Idosos
3. Resposta Imune
4. Radicais Livres

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**Escola Nacional de Saúde Pública**

Dissertação de Doutorado apresentada à Banca Examinadora para obtenção do grau de Doutor em Saúde Pública, área de concentração Saúde do Idoso.

**Orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Mário Antônio Sayeg**

**Banca Examinadora:**

---

**Prof<sup>o</sup> Dr. Mário Antônio Sayeg**  
Orientador ENSP/FIOCRUZ

---

**Prof<sup>o</sup> Dr. Fermin Roland Schramm**  
ENSP/FIOCRUZ

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Selma Margareth Bacellar de Souza Leão**  
ENSP/FIOCRUZ

---

**Prof<sup>o</sup> Dr. Hélio Póvoa Filho**  
E.M.C/ UNI-RIO

---

**Prof<sup>o</sup> Dr. Pietro Novellino**  
E.M.C/ UNI-RIO

Rio de Janeiro, dezembro de 1998.

Avaliação: \_\_\_\_\_



**À perseverança dos que ensinam e pesquisam.**

*PERSEVERANÇA*

*"Vivemos entre mil e uma mazelas: fome e sede, pesar e aflição, dor e miséria, a vida a nos infligir ao físico e ao espírito o pior, mas de fato não podemos sucumbir, ainda que estejamos exauridos, dado que tudo pode renascer! (...)"*

**Hélion Póvoa,**  
Livro Uirapuru, pg.19; (1993)

## AGRADECIMENTO

Nenhum objetivo é alcançado sem a colaboração de outras pessoas.

Por isso agradeço.

À minha família, que soube entender minhas ausências, nunca faltando com apoio e carinho.

Ao privilégio de ter sido orientada pelo Professor Mário Antônio Sayeg, que há muito vem desenvolvendo um incansável trabalho em múltiplas frentes, o qual culminou na organização do Núcleo de Estudos do Envelhecimento e Saúde do Idoso, na Escolha Nacional de Saúde Pública.

Não obstante sua labuta incessante, ainda encontra tempo para orientação segura dos seus pós-graduandos, que se iniciam no campo que é de seu domínio.

A aceitação do desafio, que foi demonstrar que a Anestesiologia precisa construir melhores resultados.

Ao Professor Hélon Póvoa Filho, que incorporou a esta tese à sua sólida formação em Patologia Clínica e Estudos sobre os Radicais Livres, o que foi imprescindível para concluir este estudo. Tenho nestes três anos contado com seu apoio irrestrito, tanto na condução, realização e orientação dos resultados laboratoriais.

Ao Doutor Luíz Gallotti Póvoa, responsável pelo Laboratório Hélon Póvoa Ltda., e do Centro de Medicina Avançada Clinice Ltda., que de forma fraternal acolheu a confecção dos exames e, inclusive, a importação dos reagentes (interleucina<sub>1</sub> beta e interleucina<sub>2</sub>) para compor esta tese.

À Bióloga Cirley Santos, pela imensa e sábia ajuda em toda a fase de confecção dos exames laboratoriais.

À Doutora Cláudia Calixto, pelo auxílio na colheita dos materiais.

À direção da Universidade Severino Sombra, pelo uso do biotério da Disciplina de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Vassoura.

À direção do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle da Universidade do Rio de Janeiro, por permitir a realização do Estudo de Intervenção no idoso, em suas dependências.

Aos amigos da Secretaria Acadêmica, Lilia, Kátia, Carmen, Tânia, Rita Crispim, D. Conceição, Bruno e Marcelo, que ajudaram-me nos desafios e dificuldades.

Ao mestre em Estatística, Alberto Chaia Aronovich, pelo inestimável apoio na área de informática e estatística.

À Professora Ana Maria Brasil Affonso, pela revisão do português e Miraci de Carvalho Marques pela digitação, diagramação e editoração.

**LISTA DE QUADROS**

	Pág.
Quadro nº1 - Atividades imunológicas das citocinas.....	49
Quadro nº2 - Classificação de estado físico.....	67

## LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela nº1 - Composição da dieta balanceada.....	71
Tabela nº2 - Reagentes e volumes para medidas do cortisol plasmático .	92
Tabela nº3 - Variação do cortisol em adultos aparentemente normais .....	95
Tabela nº4 - Reagente e quantidades para medidas de interleucina <sub>1</sub> beta .....	96
Tabela nº5 - Valores de IL <sub>1</sub> beta por EASIA em indivíduos adultos saudáveis.....	99
Tabela nº6 - Precisão do intra ensaio IL <sub>1</sub> beta .....	100
Tabela nº7 - Correlação da medida IL <sub>1</sub> beta.....	101
Tabela nº8 - Reagentes e quantidades para medidas da interleucina <sub>2</sub> ...	102
Tabela nº9 - Valores da IL <sub>2</sub> por EASIA em indivíduos adultos saudáveis.....	105
Tabela nº10 - Precisão do intra-ensaio para IL <sub>2</sub> .....	106
Tabela nº11 - Recuperação do sobrenadante de IL <sub>2</sub> .....	106
Tabela nº12 - Correção da medida IL <sub>2</sub> .....	107
Tabela nº13 - Resumo do procedimento de teste de IL <sub>2</sub> .....	108
Tabela nº14 - Resultados da mensuração dos lipoperóxidos nas hemácias e explosão respiratória nos grupos C,H e A .....	109
Tabela nº15 - Medidas de tendência central dos grupos C, H e A dos exames realizados .....	110
Tabela nº16 - Resultados das avaliações pré-intervenção das variáveis Ltotais, CD4, CD8, IL <sub>1</sub> , IL <sub>2</sub> , radicais livres, ER, LPH, cortisol, LT e LB no grupo G .....	114
Tabela nº17 - Resultados das avaliações pós-intervenção das variáveis Ltotais, CD4, CD8, IL <sub>1</sub> , IL <sub>2</sub> , ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT e LB no grupo G .....	115
Tabela nº18 - Resultados das avaliações pré-intervenção das variáveis Ltotais, CD4, CD8, IL <sub>1</sub> , IL <sub>2</sub> , ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT e LB no grupo P.....	116

Tabela nº19 -	Resultados das avaliações pós-intervenção das variáveis Ltotais, CD4, CD8, IL <sub>1</sub> , IL <sub>2</sub> , ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT e LB no grupo P .....	117
Tabela nº20 -	Resultados das avaliações pré-intervenção das variáveis Ltotais, CD4, CD8, IL <sub>1</sub> , IL <sub>2</sub> , ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT e LB no grupo TC .....	118
Tabela nº21 -	Resultados das avaliações pós-intervenção das variáveis Ltotais, CD4, CD8, IL <sub>1</sub> , IL <sub>2</sub> , ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT e LB no grupo TC .....	119
Tabela nº22 -	Medidas de tendência central da variável leucócitos totais nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção .....	120
Tabela nº23 -	Medidas de tendência central da variável CD4 nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção .....	120
Tabela nº24 -	Medidas de tendência central da variável CD8 e nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	121
Tabela nº25 -	Medidas de tendência central da variável interleucina <sub>1</sub> beta nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	121
Tabela nº26 -	Medidas de tendência central da variável interleucina <sub>2</sub> nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	122
Tabela nº27 -	Medidas de tendência central da variável ER nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	122
Tabela nº28 -	Medidas de tendência central da variável radicais livres nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção .....	123
Tabela nº29 -	Medidas de tendência central da variável LPH nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	123
Tabela nº30 -	Medidas de tendência central da variável cortisol nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	124
Tabela nº31 -	Medidas de tendência central da variável LB nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	124

Tabela nº32 -	Medidas de tendência central da variável LT nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção.....	125
Tabela nº33 -	Alterações dos leucócitos totais por grupo de intervenção .	125
Tabela nº34 -	Alterações dos leucócitos totais verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção .....	126
Tabela nº35 -	Alterações dos CD4 por grupo de intervenção .....	128
Tabela nº36 -	Alterações dos CD4 verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção.....	129
Tabela nº37 -	Alteração dos CD8 por grupo de intervenção .....	131
Tabela nº38 -	Alterações dos CD8 verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção .....	131
Tabela nº39 -	Alterações da interleucina <sub>1</sub> beta por grupos de intervenção.....	134
Tabela nº40 -	Alterações dos valores de interleucina <sub>1</sub> beta verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção.....	134
Tabela nº41 -	Alterações da interleucina <sub>2</sub> por grupos de intervenção .....	136
Tabela nº42 -	Alterações dos valores de interleucina <sub>2</sub> verificadas pelas diferenças entre os três grupos de intervenção.....	137
Tabela nº43 -	Alterações da explosão respiratória por grupo de intervenção .....	138
Tabela nº44 -	Alterações da explosão respiratória verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção.....	138
Tabela nº45 -	Alterações de radicais livres por grupo de Intervenção .....	141
Tabela nº46 -	Alterações de radicais livres verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção.....	141
Tabela nº47 -	Alterações dos lipoperóxidos nas hemácias por grupo de intervenção .....	144
Tabela nº48 -	Alterações dos valores dos lipoperóxidos nas hemácias verificadas pelas diferenças entre os três grupos de intervenção .....	145

Tabela nº49 -	Alterações do cortisol por grupo de intervenção .....	147
Tabela nº50-	Alterações do cortisol verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção.....	147
Tabela nº51-	Alterações dos linfócitos B, por grupo de intervenção .....	149
Tabela nº52 -	Alterações dos linfócitos B verificadas pelas diferenças entre os três grupos de intervenção.....	149
Tabela nº53 -	Alterações dos linfócitos T, por grupo de intervenção .....	151
Tabela nº54 -	Alterações dos linfócitos T, verificada pelas diferenças entre os três grupos .....	151
Tabela nº55 -	Correlação entre o aumento de cortisol nos grupos G, P e TC, e a formação de radicais livres .....	153
Tabela nº56 -	Correlação entre o aumento de LPH e decréscimo de interleucina <sub>1</sub> , interleucina <sub>2</sub> , CD4, CD8, LT, LB, nos grupos G, P e TC .....	158
Tabela nº57 -	Correlação entre aumento de radicais livres e decréscimo de interleucina <sub>1</sub> beta, de interleucina <sub>2</sub> , CD4, CD8, LT e LB, nos grupos G, P e TC .....	168
Tabela nº58 -	Correlação entre o aumento de explosão respiratória e decréscimo de interleucina <sub>1</sub> beta, interleucina <sub>2</sub> , CD4, CD8 LT e LB, nos grupos G, P e TC .....	177



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Pág.
Figura nº1 - Síntese de cortisol .....	53
Figura nº2 - Ciclo circadiano.....	54
Figura nº3 - Mecanismo de regulação de secreção de cortisol no plasma .....	55
Figura nº4 - Liberação de cortisol e alterações imunológicas.....	56
Figura nº5 - Junção mioneural.....	80
Figura nº6 - Resultados da explosão respiratória nos grupos H, A e C..	111
Figura nº7 - Resultados dos lipoperóxidos nas hemácias grupos H, A e C .....	111
Figura nº8 - Valores dos leucócitos totais nos idosos do grupo P, antes e após intervenção .....	126
Figura nº9 - Valores dos leucócitos totais nos idosos do grupo P, antes e após intervenção .....	127
Figura nº10 - Valores dos leucócitos totais nos idosos do grupo TC, antes e após a intervenção .....	128
Figura nº11 - Valores do CD4 nos idosos do grupo G, antes e após a intervenção .....	129
Figura nº12- Valores do CD4 nos idosos do grupo P, Antes e após a intervenção .....	130
Figura nº13 - Valores do CD4 nos idosos do grupo TC, antese após a intervenção .....	130
Figura nº14 - Valores do CD8 nos idosos do grupo G, antes e pós-intervenção.....	132
Figura nº15 - Valores de CD8 nos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção.....	132
Figura nº16 - Valores de CD8 nos idosos do grupo TC, antes e após intervenção .....	133

Figura nº17 -	Valores da interleucina <sub>1</sub> beta nos idosos do grupo G, antes e após intervenção.....	135
Figura nº18 -	Valores da interleucina <sub>1</sub> beta nos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção.....	135
Figura nº19 -	Valores da interleucina <sub>1</sub> beta nos idosos do grupo TC, antes e pós-intervenção.....	136
Figura nº20 -	Valores da interleucina <sub>2</sub> do grupo, antes e após intervenção...	137
Figura nº21 -	Valores da explosão respiratória nos idosos do grupo G, antes e pós-intervenção.....	139
Figura nº22 -	Valores da explosão respiratória nos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção.....	139
Figura nº23 -	Valores da explosão respiratória nos idosos do grupo TC, antes e pós-intervenção.....	140
Figura nº24 -	Valores de radicais livres nos idosos do grupo G, antes e pós-intervenção.....	142
Figura nº25 -	Valores de radicais livres nos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção.....	143
Figura nº26 -	Valores de radicais livres nos idosos do grupo TC, antes e pós-intervenção.....	144
Figura nº27 -	Valores dos lipoperóxidos nas hemácias dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção.....	145
Figura nº28 -	Valores dos lipoperóxidos nas hemácias dos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção.....	146
Figura nº29 -	Valores dos lipoperóxidos nas hemácias dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção.....	146
Figura nº30 -	Valores de cortisol dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção.....	147
Figura nº31 -	Valores de cortisol dos idosos no grupo P, antes e pós-intervenção.....	148

Figura nº32 -	Valores de cortisol dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção.....	148
Figura nº33 -	Valores dos linfócitos B dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção.....	149
Figura nº34 -	Valores dos linfócitos B dos idosos no grupo P, antes e pós-intervenção.....	150
Figura nº35 -	Valores dos linfócitos B dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção.....	150
Figura nº36 -	Valores dos linfócitos T dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção.....	151
Figura nº37 -	Valores dos linfócitos T dos idosos no grupo P, antes e pós-intervenção.....	152
Figura nº38 -	Valores dos linfócitos T dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção.....	152
Figura nº39 -	Variação do LPH e do cortisol, no grupo G.....	154
Figura nº40 -	Variação do LPH e do cortisol, no grupo P .....	154
Figura nº41 -	Variação do LPH e do cortisol, no grupo TC.....	155
Figura nº42 -	Variação de radicais livres e da variação do cortisol no grupo G .....	155
Figura nº43 -	Variação de radicais livres e da variação do cortisol, no grupo P.....	156
Figura nº44 -	Variação de radicais livres e da variação do cortisol, no grupo TC .....	156
Figura nº45 -	Variação da explosão respiratória e do cortisol, no grupo G ....	157
Figura nº46 -	Variação da explosão respiratória e do cortisol, no grupo P ....	157
Figura nº47 -	Variação da explosão respiratória e do cortisol, no grupo TC ..	158
Figura nº48 -	Variação da IL <sub>1</sub> beta e a variação do LPH, no grupo G .....	159
Figura nº49 -	Variação da IL <sub>1</sub> beta e a variação do LPH, no grupo P.....	159
Figura nº50 -	Variação da IL <sub>1</sub> beta e a variação do LPH, no grupo TC ....	160
Figura nº51 -	Variação da IL <sub>2</sub> e a variação do LPH, no grupo G .....	160

Figura nº52 -	Variação da IL <sub>2</sub> e a variação do LPH, no grupo P.....	161
Figura nº53 -	Variação da IL <sub>2</sub> e a variação do LPH, no grupo TC .....	161
Figura nº54 -	Variação do CD4 e a variação do LPH, no grupo G .....	162
Figura nº55 -	Variação do CD4 e a variação do LPH, no grupo P.....	162
Figura nº56 -	Variação do CD4 e a variação do LPH, no grupo TC .....	163
Figura nº57 -	Variação do CD8 e a variação do LPH, no grupo G .....	163
Figura nº58 -	Variação do CD8 e a variação do LPH, no grupo P.....	164
Figura nº59 -	Variação do CD8 e a variação do LPH, no grupo TC .....	164
Figura nº60 -	Variação do LT e a variação do LPH, no grupo G .....	165
Figura nº61 -	Variação do LT e a variação do LPH, no grupo P.....	165
Figura nº62 -	Variação do LT e a variação do LPH, no grupo TC .....	166
Figura nº63 -	Variação do LB e a variação do LPH, no grupo G .....	166
Figura nº64 -	Variação do LB e a variação do LPH, no grupo P.....	167
Figura nº65 -	Variação do LB e a variação do LPH, no grupo TC .....	167
Figura nº66 -	Variação de IL <sub>1</sub> beta e a variação de radicais livres, no grupo G .....	168
Figura nº67 -	Variação de IL <sub>1</sub> beta e a variação de radicais livres, no grupo P.....	169
Figura nº68 -	Variação de IL <sub>1</sub> beta e a variação de radicais livres, no grupo TC .....	169
Figura nº69 -	Variação de IL <sub>2</sub> e a variação de radicais livres, no grupo G .....	170
Figura nº70 -	Variação de IL <sub>2</sub> e a variação de radicais livres, no grupo P.....	170
Figura nº71 -	Variação de IL <sub>2</sub> e a variação de radicais livres, no grupo TC .....	171
Figura nº72 -	Variação de CD4 e a variação de radicais livres, no grupo G .....	171
Figura nº73 -	Variação de CD4 e a variação de radicais livres, no grupo P.....	172

Figura nº74 -	Variação de CD4 e a variação de radicais livres, no grupo TC .....	172
Figura nº75 -	Variação de CD8 e a variação de radicais livres, no grupo G .....	173
Figura nº76 -	Variação de CD8 e a variação de radicais livres, no grupo TC .....	173
Figura nº77 -	Variação de CD8 e a variação de radicais livres, no grupo P.....	174
Figura nº78 -	Variação de LT e a variação de radicais livres, no grupo G .....	174
Figura nº79 -	Variação de LT e a variação de radicais livres, no grupo P.....	175
Figura nº80 -	Variação de LT e a variação de radicais livres, no grupo TC .....	175
Figura nº81 -	Variação de LB e a variação de radicais livres, no grupo G .....	176
Figura nº82 -	Variação de LB e a variação de radicais livres, no grupo P.....	176
Figura nº83 -	Variação de LB e a variação de radicais livres, no grupo TC .....	177
Figura nº84 -	Variação de IL <sub>1</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo G.....	178
Figura nº85 -	Variação de IL <sub>1</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo P .....	178
Figura nº86 -	Variação de IL <sub>1</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo TC.....	179
Figura nº87 -	Variação de IL <sub>2</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo G.....	179
Figura nº88 -	Variação de IL <sub>2</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo P .....	180

Figura nº89 -	Variação de IL <sub>2</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo TC.....	180
Figura nº90 -	Variação de CD4 e a variação da explosão respiratória, no grupo G.....	181
Figura nº91 -	Variação de CD4 e a variação da explosão respiratória, no grupo P.....	181
Figura nº92 -	Variação de CD4 e a variação da explosão respiratória, no grupo TC.....	182
Figura nº93 -	Variação de CD8 e a variação da explosão respiratória, no grupo G.....	182
Figura nº94 -	Variação de CD8 e a variação da explosão respiratória, no grupo P.....	183
Figura nº95 -	Variação de CD8 e a variação da explosão respiratória, no grupo TC.....	183
Figura nº96 -	Variação de LT e a variação da explosão respiratória, no grupo G.....	184
Figura nº97 -	Variação de LT e a variação da explosão respiratória, no grupo P.....	184
Figura nº98 -	Variação de LT e a variação da explosão respiratória, no grupo TC.....	185
Figura nº99 -	Variação de LB e a variação da explosão respiratória, no grupo G.....	185
Figura nº100 -	Variação de LB e a variação da explosão respiratória, no grupo P.....	186
Figura nº101 -	Variação de LB e a variação da explosão respiratória, no grupo TC.....	186
Figura nº102 -	Percentual de infecções sistêmicas e local.....	187

**LISTA DE ANEXOS**

	Pág.
ANEXO 1 -	Dados sobre Herniorrafia Inguinal 1995-1997 - SUS..... 229
ANEXO 2 -	Aprovação Comissão de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de Vassouras ..... 230
ANEXO 3 -	Aprovação Conselho de Ética HUGG ..... 231
ANEXO 4 -	Projeto de Pesquisa (ratos Wistar) ..... 232
ANEXO 5 -	Questionário (antes e pós-internação)..... 233
ANEXO 6 -	Pedido de Exames Laboratoriais pré e pós ..... 234
ANEXO 7 -	Termo de Consentimento ..... 235
ANEXO 8 -	Taxa de Infecção Hospitalar do HUGG, período 1995 a 1996 ..... 236
ANEXO 9 -	Carta com resultados dos exames laboratoriais ..... 237

## ÍNDICE GERAL

LISTA DE QUADROS .....	vii
LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	xii
LISTA DE ANEXOS .....	xviii
RESUMO.....	xxi
ABSTRACT .....	xxiii
CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO .....	25
CAPÍTULO 2 - INTRODUÇÃO .....	28
2.1 - O Envelhecimento Populacional .....	28
2.2 - Elementos Básicos do Sistema Imune .....	33
2.3 - A Imunossenescência.....	37
2.4 - A Complexidade do Sistema Imune e a Imunossenescência .....	39
2.5 - Citoquinas.....	47
2.5.1 - Interleucina <sub>1</sub> .....	50
2.5.2 - Interleucina <sub>2</sub> .....	51
2.6 - Cortisol .....	52
2.7 - Radicais Livres e Estresse Oxidativo.....	56
2.8 - Efeitos dos Agentes e Técnicas Anestésicas na Resposta Imune do Idoso.....	60
CAPÍTULO 3 - JUSTIFICATIVA .....	65
CAPÍTULO 4 - OBJETIVOS GERAIS.....	69
4.1 - Objetivos Específicos na Pesquisa Experimental em <i>anima ville</i> ....	69
4.2 - Objetivos Específicos na Pesquisa de Intervenção <i>anima nobilis</i> ...	69



CAPÍTULO 5 - METODOLOGIA.....	70
5.1 - População do Estudo Experimental.....	70
5.2 - População do Estudo de Intervenção.....	71
5.3 - Instrumentos de Medidas do Estudo Experimental.....	72
5.4 - Métodos dos Exames Laboratoriais no Estudo Experimental.....	73
5.4.1 – Dosagem de Lipoperóxidos nas hemácias.....	73
5.4.2 – Determinação da explosão respiratória por quimioluminescência.....	74
5.5 - Instrumentos de Medidas do Estudo de Intervenção.....	75
5.6 - Métodos dos Exames Laboratoriais no Estudo de Intervenção.....	84
5.6.1 – Dosagem de Lipoperóxidos nas hemácias.....	84
5.6.2 – Determinação da explosão respiratória.....	85
5.6.3 – Determinação de radicais livres por quimioluminescência.....	86
5.6.4 – Mensuração de CD4+ e T CD8+.....	87
5.6.5 – Determinação de Linfócitos T e Linfócitos B.....	89
5.6.6 – Determinação de Cortisol plasmático.....	90
5.6.7 – Mensuração da interleucina <sub>1</sub> beta.....	96
5.6.8 – Mensuração da interleucina <sub>2</sub> .....	102
CAPÍTULO 6 - RESULTADOS.....	109
6.1 - Resultados do Estudo Experimental.....	109
6.2 - Resultados do Estudo de Intervenção.....	122
6.3 - Correlações.....	163
CAPÍTULO 7 - DISCUSSÃO.....	188
7.1 - Do Estudo Experimental.....	188
7.2 - Do Estudo de Intervenção.....	190
7.3 - Das Correlações.....	198
CAPÍTULO 8 - CONCLUSÃO.....	200
CAPÍTULO 9 - RECOMENDAÇÕES.....	203
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	204
ANEXOS.....	229

## RESUMO

Esta pesquisa realizou dois estudos: um experimental e outro de intervenção.

Buscou-se a influência que as técnicas de anestesia geral; peridural e combinada possam trazer à resposta imunológica do idoso e se os Radicais Livres são preditivos desta alteração.

Compuseram o estudo experimental 45 ratos Wistar idosos, que foram divididos em três grupos (n=15), denominados: Hipnótico (H) (propofol); Analgésico (A) (propofol e fentanil) e Controle (C) (sem medicação). Durante o ato anestésico sem estímulo algico, foram mensurados os lipoperóxidos nas hemácias e a explosão respiratória.

O estudo de intervenção foi composto de 90 idosos, homens e mulheres, com idade entre 60-69 anos, para a cirurgia de Herniorrafia Inguinal. Estes foram divididos em três grupos de 30 componentes.

O grupo geral (G) (propofol, fentanil, isoflurano); o grupo peridural (P) (bupivacaína) e técnica combinada (TC) (bupivacaína, propofol, isoflurano) sendo mensurados, antes e após a intervenção, os leucócitos totais; CD4; CD8; linfócitos T e B; interleucinas<sub>1</sub> beta e interleucina<sub>2</sub>; cortisol; lipoperóxidos nas hemácias; Radicais Livres e explosão respiratória.

Os resultados evidenciaram: no estudo experimental que o grupo H (propofol) obteve uma redução dos lipoperóxidos nas hemácias e a explosão respiratória não teve alterações nos grupos estudados.

No estudo de intervenção, o grupo geral foi o que resultou em maior número de influências após a intervenção; ocorreu redução de leucócitos totais; linfócitos T, e o cortisol aumentou, assim como os Radicais Livres.

O grupo peridural apresentou aumento da explosão respiratória e de Radicais Livres, sem influências na resposta imune pós-intervenção.

No grupo técnica combinada, houve aumento dos leucócitos totais, principalmente nos que já apresentavam leucocitose prévia; da explosão respiratória e de Radicais Livres.

Há correlações entre o aumento de Radicais Livres e decréscimo de CD8 no grupo peridural, assim como no grupo TC, o aumento de Radicais Livres reduziu o CD4 e LB.

A explosão respiratória aumentou no grupo TC e reduziu a interleucina<sub>1</sub> beta.

O grupo Peridural desenvolveu um percentual menor de infecção, (23,3% contra 26,7%), que os grupos geral e técnica combinada.

Conclui-se, no estudo experimental, que a anestesia só com propofol, sem estímulo algico, promoveu redução da peroxidação lipídica nas hemácias.

A técnica peridural foi a que menos influenciou a resposta imune no idoso, apesar de ter aumento de Radicais Livres (quimioluminescência) e apresentou o menor percentual de infecção pós-operatória tardia.

## ABSTRACT

The results of this research was based on two studies: the first one was based on trials and the second, on intervention.

What was sought in these research was to ascertain the influence of the techniques used in general, peridural and combined anesthesia to the immunological response observed in elderly individuals and whether the presence of free radicals predict such alteration.

The essays were carried out with the aid of 45 old Wistar rats, divided into three groups with 15 individuals, which received the following denomination: hypnotic (propofol); analgesic (propofol and fentanyl) and control (without any medicine). During the anesthesia procedure without the use of algetic stimuli, the levels of lipoperoxide found in the red blood cells and breathing explosion were measured.

The intervention studies were carried out in a group made up of 90 elderly individuals, men and women, with ages between 60-69, in inguinal herniorraphy surgeries. This group was divided into three smaller groups with 30 individuals.

The general (G) group (encompassing propofol, fentanyl and isoflurane); the peridural (P) group (bupivacaine) and combined technique (TC) (bupivacaine, propofol, isoflurane) were examined. The rates of total leukocytes; CD4, CD8, T and B lymphocytes, beta 1- and 2-interleukin, cortisol, lipoperoxide in the red blood cells, free radicals and breathing explosion.

The evidences of the studies were that: in the trials carried out in group H (propofol), the reduction of lipoperoxide in the red blood cells and breathing explosion were not altered in the groups studied.

In intervention studies, the greater number of influences was verified in the general group: total leukocytes and T lymphocytes were reduced and cortisol increased, as well as free radicals.

In the peridural group, an increase of breathing explosion was ascertained, as well as free radicals, without any influence in the immunological response post-intervention.

In the combined technique group, total leukocytes increased, mainly in those individuals which already presented leukocytosis; increase of breathing explosion and free radicals was also verified.

There are relationships between the increase in the free radicals and the decrease in the CD8 of the peridural group; the same influence was verified as per TC group, where the increase of free radicals reduced CD4 and LB.

Breathing explosion increased in the TC group and reduced beta 1-interleukin.

The peridural group developed a lower percentage of infection (23.3% versus 26.7%), in comparison to general and combined technique groups.

It can be concluded from the experimental essay that anesthesia procedure, when carried out with propofol only, without algetic stimuli, resulted in the reduction of lipidic peroxidation in the red blood cells.

The peridural technique was the one in which the levels of influence in the immunological response were less perceptible in elderly individuals, in spite of the increase of free radicals (chemoluminescence). Likewise, the percentage of post-surgery infection verified was smaller.

## **CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO**

A questão do envelhecimento representa desafios: médicos, sociais, culturais e filosóficos.

Simone de Beauvoir, já na década de 70, no livro “A velhice”, entre outras ponderações, diz “...que muito da dificuldade que se tem em relação à velhice, está relacionada ao fato de o homem se recusar a se reconhecer no velho que um dia será..”.

O aumento progressivo da população idosa no mundo, torna a questão da terceira idade tema de fundamental importância neste final de século.

O aumento da expectativa de vida representa um grande desafio em todas as áreas do saber, sendo uma delas na condução dos procedimentos anestesiológicos desta população.

O sistema imunológico tem como função reconhecer o que é próprio do organismo e o que é estranho ao mesmo, proteger o corpo humano contra uma variedade de microorganismo patogênicos, além de distinguir as células normais das células neoplásicas. Sabe-se que ele, reduz sua efetividade com o avançar da idade, propiciando o aumento de incidência de infecções, doenças auto-imunes e neoplasias malignas.

Concomitante com a redução imunológica, há uma intensa produção de Radicais Livres de Oxigênio (RLO), além da redução das enzimas, que eliminam estes radicais, favorecendo a decaída do vigor celular, como também do sistema imunológico.

O ato anestésico (sem trauma cirúrgico) ou ato anestésico-cirúrgico é conhecido como depressor da função dos granulócitos nos pacientes imunodeprimidos por causas fisiológicas, senilidade e gravidez ou induzidas, como por uso de medicamentos imunossupressor.

As técnicas anestésicas, Geral, Espinhal e Técnica Combinada (anestesia geral e peridural associadas), têm sido empregadas amplamente em pacientes gravemente doentes, em qualquer faixa etária, sendo que os melhores resultados têm sido com as Técnicas Espinhais e Combinada.

Tem sido demonstrando que os pacientes graves, com grande possibilidade de morte com ou sem tratamento cirúrgico, têm obtido melhores resultados na sua resposta imune quando anestesiados com as técnicas Espinhais ou Combinada. No entanto estes trabalhos envolvem população geral, não especificando um tipo de cirurgia ou ainda estudando faixas etárias extensas, com pouca representatividade para concluir-se o que ocorre com o idoso .

O presente estudo se propôs a preencher parte desta lacuna de dados sobre a influência das técnicas anestésicas na resposta imunológica pós-anestésica no idoso. Ao estudar algumas das técnicas anestésicas mais usuais no Brasil, (geral, peridural e técnica combinada), voltada para uma faixa etária prevalente no país (60-69 anos) para um procedimento cirúrgico muito freqüente, que é a Cura Cirúrgica de Hérnia Inguinal, sendo considerada cirurgia de baixa potencialidade de infecção.

Na introdução, há informações gerais sobre o envelhecimento da população no Brasil e no mundo, aspectos da imunossenescência e do estresse oxidativo que acomete o idoso e os potenciais impactos que o ato anestésico possa trazer a estes dois fatores .

Na justificativa, são apontados os aspectos que subsidiaram e definiram o modelo deste estudo.

Os objetivos gerais e específicos que norteiam esta pesquisa são explicitados, bem como a metodologia empregada. Apresenta-se as variáveis selecionadas para este fim, que são: leucócitos totais; CD 4; CD 8; linfócito T, linfócito B; interleucina<sub>1</sub>; interleucina<sub>2</sub>, cortisol, explosão respiratória, quimioluminescência e lipoperóxidos nas hemácias.

Esta pesquisa é composta de duas etapas : uma experimental em *anima ville* e outra de intervenção em *anima nobilis*, todos idosos.

A proposta de um estudo experimental justifica-se, por ser possível nesse modelo controlar algumas variáveis como: nutrição, exposição a radiação e a agentes infecciosos.

O animal escolhido foi rato Wistar; este animal apresenta resultados semelhantes em *anima nobilis*, tanto na pesquisa de produção de Radicais

Livres de Oxigênio como em resposta imunológica. (Thorman et al., 1982) (Bruce, 1986) (Philosoph et al. 1989) (Tait, 1990) (Marckonic, 1993)

Na segunda etapa, foi realizado um estudo de intervenção em 90 idosos, divididos em 3 grupos de 30 pessoas, na faixa etária de 60-69 anos, todos operados de Hérnia Inguinal. Foram realizadas três técnicas anestésicas diferentes, para avaliar a influência das mesmas sobre a resposta imunológica do idoso.

Após os resultados e análise estatística, apresenta-se a discussão, onde procurou-se evidenciar a importância dos itens estudados, tendo como horizonte a questão da influência que cada técnica anestésica promoveu no idoso, tanto na produção de Radicais Livres como na resposta imunológica e suas correlações.

Na conclusão do trabalho, com base nos resultados obtidos, são apresentadas sugestões que podem contribuir para orientar o planejamento anestésico dos idosos, que os atenda com menores riscos de alterações imunológicas e, conseqüentemente menor incidência de infecção.



## **CAPÍTULO 2 - INTRODUÇÃO**

Uma reflexão é necessária quando estamos diante de uma nova realidade; como é o caso do envelhecimento populacional.

Por que houve este incremento?

A resposta está numa combinação de fatores genéticos, ambientais e comportamentais.

Há evidências de que o potencial genético se revela na função imunológica, reduzindo-se os riscos de morte por doenças infecciosas agudas e auto-imunes.

Os fatores ambientais, como as eco-circunstâncias, que desde a infância até a maturidade permeiam o homem, associados aos demais fatores como: biológico, psicológico, sociais, culturais e econômicos que interagem com o ser humano.

Os fatores comportamentais vinculados à sociedade e à cultura dos indivíduos, manifestam-se no estilo de vida, que podem incluir ou não hábitos alimentares, tabagismo, alcoolismo, dependências químicas, que influem em muito na longevidade e um melhor nível de saúde.

Como a intervenção anestésica pode ocorrer muitas vezes, pela primeira vez na idade considerada idosa, ou seja, quando se tem idade maior de 60 anos e sabendo-se que a intervenção anestésica está associada na literatura médica com alterações imunológicas temporária, podendo acentuar a imunossenescência torna-se imperioso o estudo da influência de técnicas anestésicas na resposta imunológica do idoso e suas relações com o estresse adaptativo (cortisol) e estresse oxidativo (produção de Radicais Livres).

### **2.1 - O Envelhecimento Populacional**

O envelhecimento da população começou a manifestar-se de forma mais evidente, na França, no final do século XVIII, quando 10% da população tinham

mais de 60 anos. O mesmo fenômeno ocorreu, rapidamente, em outros países, em especial nos mais desenvolvidos. (Beauvoir, 1990)

Atualmente, dentre todos os acontecimentos contemporâneos, o aumento da população idosa é considerado um fenômeno mundial. Estudos demográficos apontam que, tanto nos países desenvolvidos quanto nos demais, o número de idosos está crescendo de tal modo, que estima-se daqui a duas décadas que existam 1.135.000 (um bilhão cento e trinta e cinco milhões) de idosos, aproximadamente três vezes mais do que havia há dez anos. (Kalache, 1993).

Nos países subdesenvolvidos o crescimento é ainda mais acentuado, para uma população de idosos estimada em 198.000.000 (cento e noventa e oito milhões em 1980); espera-se cerca de 806.000.000 (oitocentos e seis milhões) no ano 2025, o que significa que 71% dos idosos do mundo estarão vivendo nos países chamados de terceiro mundo (Veras 1992), devendo-se considerar que em países subdesenvolvidos, o critério cronológico é a entrada na sexta década da vida. (Anzola-Perez, 1985) (Kalache, 1987 e 1993)

Um dos aspectos peculiares do envelhecimento da população até o presente momento, tem sido a constatação de que mulheres vivem mais do que os homens. (Kinsella, 1993) É um fenômeno fácil de ser circunscrito, pois envolve conceitos biológicos, psicológicos, existenciais, culturais e sociais, que levaram as mulheres a serem mais longevas.

Beauvoir (1970) descreve que muitos idosos são tratados como “...párias, condenados à miséria, à solidão, às deficiências e ao desespero...” e questiona: “... como reparar a destruição sistemática que os homens sofrem, desde o nascimento na sociedade da competição e do lucro...” e interroga: “... Como seria ser uma sociedade para que, em sua velhice, um homem permanecesse um homem?...”.

Estas questões influenciam no biológico e devem ser pensadas quando um paciente necessita de um ato anestésico e este possa promover alterações, seja pelo estresse psicológico da situação, biológico ou químico (pelos agentes anestésicos) na sua imunidade acarretando, quem sabe, até um agravamento do seu envelhecimento, visto que podem ocorrer alterações no

Sistema Nervoso Central (Yamaguchi, et al., 1998) e alterações imunológicas pós-anestésica. No sentido de não transgredir o aspecto ético de promover a não maleficência de Hipócrates (*primun non nocere*), torna-se imprescindível avaliar a influência da anestesia na resposta imunológica do idoso.

O planejamento do ato anestésico inicia-se com uma entrevista semi-estruturada, na qual tenta-se identificar hábitos de vida (atual e pregressa), história da doença, uso de medicamentos, seguido de exame físico e avaliação de exames laboratoriais e de imagens, que se façam necessários.

Daí, parte-se para a escolha da técnica anestésica que deverá contemplar os seguintes itens; melhor adequação ao estado psicobiológico do paciente, tempo de duração e tipo de ato cirúrgico e a necessidade de relaxamento muscular intenso. A possibilidade de que a exposição da anestesia possa influenciar nos mecanismos imunes, foram surgindo em várias espécies animais (Rosenow, 1930) e confirmado principalmente pelo aumento de leucócitos, leucocitose. (Boyd, 1936), (Dougherty, 1953) (Slade et al., 1975)

Os efeitos dos agentes anestésicos no sistema imune pode ser mediado também por estímulos álgicos não efetivamente controlados, (dose insuficiente), que desencadearão uma síndrome adaptativa, liberando hormônios, dentre eles o cortisol, que é imunossupressor.

A liberação de corticotrofina pela hipófise é acompanhada de linfopenia (Dougherty 1953) (Michael, 1949) (Walton, 1978) (Walton, 1979).

Esteróides interferem com o metabolismo das células tímicas de rato, pela inibição da captação da glicose (Young, 1969), reduzindo sua maturação.

O teste de fitohemaglutina pode ser alterado, caso o cortisol esteja aumentado no pós-anestésico. (Berenbaun, et al., 1973)

O aumento de morbidades e mortalidade, seguidos da exposição de halotano (anestésico inalatório) em ratos inoculados com o vírus da hepatite, podem refletir os efeitos imunossupressivos deste anestésico. (Moudgil, 1973) (Walton, 1979)

O ato anestésico (sem trauma cirúrgico) é reconhecido como depressor da função dos granulócitos, em imunodeprimidos, tanto por causas adquiridas como : AIDS, gravidez e senilidade ,quanto por causa induzida por uso de

medicamentos imunossupressores. (Cattaneo, 1985) (Delogue, 1989) (Seitz 1991) (Santana, 1993)

O mecanismo básico proposto para explicar esta imunodepressão seria a redução dos receptores das neoglicoproteínas, o que resultaria na não ativação dos macrófagos, impedindo o processo de fagocitose dos microorganismos. (Num, 1982) (Seitz, 1991) (Prasad, 1992)

Só o ato anestésico é capaz de impedir a *natural killer cells* de atuarem. (Markonic, 1993) (Clark, 1993)

Os linfócitos T também sofrem a ação isolada dos agentes anestésicos mesmo sem trauma, impedindo sua diferenciação em sub-população (Espada, 1995).

Em 1956, Harman propôs a teoria dos Radicais Livres no envelhecimento .

A teoria que de que os resultados do envelhecimento são causados pelos efeitos deletérios randômicos aos tecidos, eram advindos dos Radicais Livres.

A confirmação para esse conceito veio da aceleração observada de alguns achados de envelhecimento, após a geração de radicais radiolíticos pela radiação de corpo inteiro com raios X.

Harman sugeriu que os Radicais Livres são continuamente produzidos no curso do metabolismo celular.

Esta teoria de envelhecimento através dos Radicais Livres foi reacendida por Mc Cord e Fredovich, que iniciaram uma nova era de pesquisa, descrevendo a existência e a função biológica da SOD (superóxido dismutase) (McCord e Al, 1969). A descoberta de uma enzima que catalisa a remoção de Radicais Livres celulares, estimulou de maneira considerável o interesse no estudo da teoria dos Radicais Livres no envelhecimento.

Em 1978, Nohl e Hegner descreveram um aumento relacionado com a idade, na liberação de oxigênio atômico (Singlet) e  $H_2 O_2$  (peróxido de hidrogênio), tendo sido relatado que esta estimulação estaria relacionada com a idade através da ativação do oxigênio mitocondrial, causando um desequilíbrio entre os pró-oxidantes e os antioxidantes.

A existência dessa situação, chamada “estresse oxidativo” foi sugerida a partir do acúmulo observado de lesão oxidativa à estrutura e função da mitocôndria isolada de animais idosos.

No envelhecimento, do organismo, há um desequilíbrio crescente entre a formação de pró-oxidantes e o sistemas de defesa antioxidantes.

Kjeldsen, 1996 correlacionou o estresse oxidativo com redução de imunidade e aumento do risco de infecção.

Quatro linhas de evidências experimentais sustentam essa conclusão. São elas:

- 1) a medida direta de Radicais Livres no material biológico isolado do coração, cérebro e fígado de mamíferos e os músculos de mamíferos e de moscas domésticas. (Nohl H. et al., 1978) (Sohal, et al., 1990)
- 2) o acúmulo tecidual de agressões oxidativas às biomoléculas, como os fosfolípidos, DNA e proteínas. (Lippman, 1980) (Sagai et al., 1980)
- 3) medição de capacidades antioxidantes como uma função de vida. (Sohal et al., 1981)
- 4) a resposta de expectativa de vida de animais vivos à administração de antioxidantes. (Mehlhorn et al., 1985)

Estes resultados indicam que os Radicais Livres têm como causa ou consequência, ação sobre o processo de envelhecimento e, com o aumento progressivo destes, há possibilidade de desenvolver doenças. (Lunec, 1990) (Olszewer, 1997)

Envelhecer é um processo fisiológico assim como os Radicais Livres. No envelhecimento seja como causa ou como consequência há acúmulo de Radicais Livres .

Com o envelhecimento o sistema antioxidante sofre alterações enquanto a produção de Radicais Livres continua firme, constante, o sistema antioxidante endógeno reduz sua atividade. Isto favorece o estresse oxidativo que

determinará, dentre outras ações, supressão da reação do organismo a antígenos, em especial aos relacionados ao linfócitos T. (Allan, et al., 1987).

Sabendo que GSH é um tripeptídeo que tem a maior ação antioxidante intra celular, através da remoção do  $H_2O_2$  intra celular, quando há redução do GSH a ação da função da célula T fica prejudicada (ECK et al., 1989), assim como a depleção de GSH está associada à imunossupressão e regulação para baixo (*down-regulation*) dos receptores da interleucina<sub>2</sub> (IL<sub>2</sub>). (Suthantiran, 1990)( Baruchel, 1994)

Sabe-se que a população idosa é mais susceptível a passar por uma intervenção anestésica-cirúrgica (Zelnilman, 1994) e que este procedimento gera aumento de Radicais Livres (Signorini, 1993), assim como a resposta inflamatória tecidual à intervenção cirúrgica também aumenta os Radicais Livres, sendo, portanto, necessário avaliar a influência do ato anestésico sobre a resposta imunológica do idoso, frente ao estresse oxidativo promovido pelo evento.

Deve-se, considerar que tanto a idade acima dos 60 anos, quanto o próprio ato anestésico são fatores que aumentam o estresse oxidativo e que agravam o processo de envelhecimento, favorecendo o decaimento do vigor celular, assim como do sistema imunológico (Sohal et al., 1990) (Signorini et al. 1993).

## **2.2 - Elementos Básicos do Sistema Imune**

Classicamente, as células T foram divididas de acordo com suas propriedades funcionais em: linfócitos T auxiliares (“Helper”, TH); linfócitos T supressores (TS); linfócito T citotóxicos (TC) e células de hipersensibilidade retardada (TD), constituindo-se os dois últimos em linfócitos efetores. Mediante estudos com clones de células T sabe-se que estas funções não representam 4 diferentes subpopulações de células; ao contrário, um único tipo de célula T pode exibir mais de uma dessas funções. (Mingari et al., 1984) (Janeway et al., 1988) (Mosmann & Coffmann, 1989)

Uma clara distinção pode ser feita entre as células T que expressam os marcadores de superfície CD4 ou CD8. As células T CD4<sup>+</sup> reconhecem o antígeno associado com as moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) classe II, enquanto as células T CD8<sup>+</sup> reconhecem o antígeno associado com as moléculas classe I do MHC. (Swain, 1983) Em princípio, todas as células expressam moléculas classe I do MHC. A expressão de moléculas classe II do MHC é principalmente restrita a macrófagos, células dendríticas, células B e células T (Hood et al., 1983; Klein et al., 1983). As células com a função mediadora TH e TD são primeiramente encontradas na subpopulação CD4<sup>+</sup>. (Mingari et al., 1984) (Mosmann & Coffmann, 1989) Ambas as células T, CD4<sup>+</sup> e CD8, são conhecidas por exercerem funções TC e TS. (Mingari et al., 1984) (Kaplan et al., 1984) (Yasukawa & Zarling, 1984) (Paul & Ruddle, 1988) (Sy & Benacerraf, 1988) (Mosmann & Coffmann, 1989)

Os receptores antigênicos da célula T não reconhecem antígenos na sua forma nativa, mas como fragmentos antigênicos fisicamente ligados com o MHC. (Moller, 1987)

É importante a influência da célula T sob a função da célula B. A indução de uma resposta de anticorpos é um processo complexo que, a nível celular, envolve um sinal para que os precursores de célula B se tornem altamente eficientes, como células do plasma, secretoras de anticorpos (plasmócitos). Um dos eventos iniciais na ativação das células B parece ser a interação entre as imunoglobulinas presentes na superfície da célula B e o antígeno. (Bretcher & Cohn, 1970)

Dependendo da natureza do antígeno que interage com as imunoglobulinas da superfície da célula B e o fenótipo desta célula, pode ser necessário um sinal adicional das células T para uma subsequente diferenciação desta célula, antigenicamente ativada, em uma secretora de anticorpos. (Abbas, 1988) (Mosmann & Coffmann, 1989) Seja pelo contato direto célula-célula, ou através de mediadores solúveis, as células T podem aumentar (TH, TD) ou diminuir (TS, TC) a resposta da célula B.

## O Timo

O timo é essencial para o desenvolvimento e manutenção da imunidade celular, sendo considerado um órgão linfóide primário, que gera linfócitos imunologicamente competentes. (Miller, 1961) (Good, 1964)

Nos mamíferos, o timo é um órgão constituído por 2 lobos, localizado no terço ântero-superior do tórax sobre o polo superior do coração e dos vasos da base. Cada lobo é organizado em lóbulos separados por trabéculas de tecido conectivo. Dentro de cada lóbulo as células linfóides (timócitos) estão arranjadas dentro de um córtex externo e uma medula interna. O córtex contém, em sua maioria, células relativamente imaturas em fase de proliferação, enquanto a medula contém mais células maduras, sugerindo um gradiente de diferenciação do córtex para a medula. Há uma rede de células epiteliais através dos lóbulos, que desempenha um papel no processo de diferenciação das células da medula óssea em linfócitos T. O microambiente tímico, essencial para a maturação normal de linfócitos T (Stutman et al., 1986) (Gelfand et al., 1980), é composto principalmente de células epiteliais (TEC), mas também possui macrófagos e células dendríticas. Somando-se a essas, existem células interdigitais (derivadas da medula óssea) que estão associadas especialmente com a rede epitelial na medula tímica. Estas células são ricas em antígenos do MHC classe II e acredita-se que são importantes no processo de auto-reconhecimento e aprendizado do timo. Os antígenos do MHC classe II são importantes nas interações reguladoras entre as células do sistema imune e para determinar como o antígeno é reconhecido pelas células T auxiliares.

Três elementos são considerados como críticos no desenvolvimento embrionário do timo:

- o endoderma da terceira bolsa faríngea,
- o ectoderma da fenda branquial e
- as células estromais do mesênquima que derivam do arco faríngeo e da crista neural. (Cordier & Haumont, 1980) (Auerback, 1960) Entretanto, ainda é controversa a natureza exata da contribuição de cada componente na



estrutura final do microambiente tímico.

Em relação ao componente linfóide do timo, aparentemente, poucas células precursoras de linfócitos (*stem cells*) são necessárias para dar origem ao repertório de células T maduras.

Embora ainda seja muito controverso, acredita-se que estas células precursoras estejam pré-comprometidas a tornarem-se células T, isto é, já seriam pré-T antes de chegarem ao timo. (Basch et al., 1978) (Greiner et al., 1982)

Os corpúsculos de Hassal são encontrados na medula tímica, sua função é desconhecida mas eles parecem conter células epiteliais em degeneração. (Roitt et al., 1989)

Marcadores de células T, incluindo enzimas, glicoproteínas de superfície e receptores, têm sido úteis na definição de vias da diferenciação de células T no timo.

Alguns marcadores são perdidos e outros são adquiridos durante a diferenciação. Por exemplo, a terminal-deoxiribonucleotidil-transferase (Tdt) está presente nas células precursoras e nas células corticais, mas não é detectada na medula tímica nem nos linfócitos periféricos (Owen et al., 1984). Por outro lado, todos os timócitos e mesmo os linfócitos maduros apresentam o marcador Thy-1. Alguns marcadores (CD3, CD4, CD8), aumentam ou diminuem sua expressão durante o processo de maturação. Desta forma, as células mais imaturas expressam uma menor quantidade de marcador e são consideradas *low* e as mais maduras, pelo fato de expressarem um maior número destas proteínas, são denominadas *high*. (Lainer, 1986) (Shortman, et al., 1988)

Geralmente, os marcadores mais estudados no processo de diferenciação dos timócitos são os antígenos CD4 e CD8. (Mathieson & Fowikes, 1984) (Pénit & Vasseur, 1988) As células CD4-/CD8- (dupla negativas), são consideradas como as células precursoras das células CD4+/CD8+ (dupla positivas), que por sua vez ainda são consideradas imaturas. Estas células dupla positivas são capazes de gerar células maduras CD4+/CD8- e CD4/CD8+ (simples positivas). As células simples positivas têm

sido consideradas uma subpopulação madura, entretanto, recentemente foi demonstrado que dentre as células CD4-/CD8+ existe uma subpopulação imatura, intermediária entre as células CD4-/CD8- e Cd4+/CD8+ e cuja densidade de antígeno CD8 é considerada *low*. (Paterson & Williams, 1987) (Mac Donald et al., 1988)

Durante o processo de maturação, o timo apresenta um fenômeno ainda não explicado, que é uma grande morte linfocitária, sendo estas células de fenótipo CD4+/CD8+ e localizadas no córtex. (Mc Phee et al., 1979) (Scollay et al., 1984) Além da morte linfocitária que ocorre normalmente, estudos sobre os aspectos funcionais dos marcadores de superfície indicam que os timócitos corticais são mais sensíveis e têm altos níveis de esteróides *in vivo*. Deschaux et al., (1961), demonstraram que a corticosterona é capaz de aumentar a atividade de algumas enzimas tímicas envolvidas no metabolismo protéico; por outro lado, a ativação de uma endonuclease que cliva DNA e causa morte celular de timócitos, foi também descrita por Wyllie (1980).

### **2.3 - A Imunossenescência**

O envelhecimento é acompanhado por mudanças no sistema imune que se evidenciam por alterações no sistema celular e humoral.

O sistema imunológico tem como função reconhecer o que é próprio do organismo e o que é estranho ao mesmo; protege o corpo humano contra uma variedade de microorganismos patogênicos, além de distinguir as células normais das neoplásicas. (Kay, 1976) (Galpin, 1981) (Satzman et al., 1987) (Ershler, 1993) (Fillit, 1984) (Mac Lennan, 1994) Para vários autores, até que provem em contrário, todo os idosos devem ser considerados imunodeficientes. (Satzman et al., 1987) (Buttler, 1994) (Fillit, 1984)

O grau de imunodeficiência varia no grupo dos idosos, desde alterações com certa perda da função até graves alterações na resposta imune. (Gilman, 1982) (Zatz, 1985) (Stockley, 1991) (Signorini, 1993) (Weigle, 1993)

Existem alterações discretas na imunidade primária (imunidade natural), que pode ser comprometida pela desnutrição secundária a doença aguda ou crônica. (Fillit, 1984)

A imunidade secundária ou adquirida é afetada qualitativamente e quantitativamente (linfócitos B e principalmente T e T helper e citoquinas). (Hobbs, 1991) (Weigle, 1993)

Esta imunidade também é comprometida pelas doenças crônicas, má nutrição e uso de agente imunossupressor.

Provavelmente a maior conseqüência da imunossenescência seja aumentar a mortalidade para as infecções. (Marino, 1997)

A presença de doenças crônicas, que predisporia à infecção, foi excluída do grupo de idosos que fizeram parte desta pesquisa, assim como morbidades que acometem idosos, tais como as incontinências fecal e urinária, que facilitam o aparecimento de infecção urinária, e a imobilidade, que favorece o desenvolvimento de úlceras de pressão (decúbito).

A demência e o acidente vascular cerebral propiciam o desenvolvimento de pneumonia, infecção do trato urinário e úlceras de pressão. O diabetes mellitus afeta a função dos polimorfonucleares.

A doença de Alzheimer e a insuficiência cardíaca, podem estar associadas à caquexia progressiva, resultando em alterações dos mediadores inflamatórios ou imunológicos, apesar da ingestão alimentar estar adequada. (Singh et al., 1988) (Levine, et al. 1990)

Os pacientes com desnutrição protéico-calórica têm também um fator importante para uma reação imune inadequada (Chandia, 1989) (Levine et al. 1990), tanto que um estudo com pacientes idosos entre 61-94 anos, nos quais os testes imunológicos estavam alterados, quando promoveu-se a suplementação alimentar necessária, mostrou-se aumento significativo dos linfócitos T. (Roebathan et al., 1994)

A depressão, estresse e o isolamento podem causar disfunção imune em pacientes idosos e, segundo estudos realizados, pode haver aumento na incidência de câncer quando estes fatores estão associados. (Fillit, 1984) (Roebathan, 1994)

Por estar avaliando a resposta imunológica de estresse ao ato anestésico-cirúrgico, não utilizamos os critérios criados no protocolo *Senieur* (Lightart et al., 1984), (Lighthart et al., 1990), que visa avaliar idosos saudáveis para compará-los com jovens.

Primeiro, não é objetivo desta pesquisa comparar idoso com jovem; segundo este protocolo não inclui alguns critérios de comprovada influência na magnitude da resposta, como a situação psicológica do indivíduo. (Pawelec et al., 1995)

Os idosos não selecionados através do protocolo “*Senieur*”, não devem ser excluídos, já que esses idosos podem constituir grande parte da população idosa. Portanto, alterações ao protocolo *Senieur*, a fim de flexibilizar seus critérios, propiciam uma avaliação do sistema imune do idoso mais ampla. (Pawelec et al., 1995)

## **2.4 - A Complexidade do Sistema Imune e a Imunossenescência**

Para alguns autores, a falência do sistema imune pode causar o envelhecimento humano (Walford, 1969)

Os tipos de células do sistema imune envolvidos incluem: monócitos, granulócitos, Natural Killer, todos são derivados e diferenciados através da medula óssea.

Os fatores de secreção incluem fatores tímicos e linfocina (fatores liberados pela ativação dos leucócitos), que tornam a estimular outros leucócitos), que também são críticos na reação imune.

Nem todos os componentes do sistema imune podem ser equitativamente afetados com a idade; a mudança de um componente pode não influenciar toda reação imunológica. Por exemplo, a atividade de T *Killer cell* é deficiente com o passar dos anos (idade), no entanto, não influencia a remoção de um antígeno, que é normalmente destruído pelo complemento .

A imunidade celular é a resposta imune específica a antígenos, é mediada por linfócitos sensibilizados e macrófagos, com menor participação de outros tipos celulares. (Delafuente et al., 1981) A ativação do sistema da

imunidade celular é a resposta normal à exposição a antígenos que podem ser: proteínas, polissacarídeos, substâncias químicas, bactérias, vírus e antígenos tumorais.

A redução de resistência às infecções é considerada por Geriatras como resultante do declínio da função imunológica. (Hirokawa, 1997)

Há também a dificuldade de selecionar o “normal”, será o mais comum, na verdade, o grau de dano relativo ao ser humano acaba por definir os níveis a partir do qual passa a ser considerado patológico. (Canguilhem, 1978)

O idoso é submetido a graus variáveis de declínio das funções celulares, teciduais e orgânicas, não sendo homogêneos estes graus entre os tecidos e órgãos do mesmo indivíduo. (Mc Leman et al., 1994)

Os principais efeitos que a idade causa na função imunológica, que estão descritos abaixo de forma simplificada, não estão associadas a efeitos de comorbidades ou estado nutricional deficiente.

#### Leucócitos Polimorfonucleares (PMN)

Pessoas idosas têm normais níveis sanguíneos de PMN, no entanto há uma conflitante evidência de que a idade reduz os efeitos fagocitários e a capacidade bactericida dos PMN. (Rink et al., 1997)

Em pesquisa realizada (por Mac Gregor et al., 1990) em idosos com idade acima de 75 anos, concluiu que a aderência dos PMNs às superfícies quimiotáxica e migração, é normal *in vitro*.

No entanto, tem reduzido índice de migração de PMN em abrasão de pele em idosos, devido à redução de CD11 (glicoproteína que aumenta a aderência epitelial dos PMNs).

Existe também evidência de que os neutrófilos do idoso são menos eficientes nos mecanismos de dissolução tissular. (Stockley et al., 1991)

#### Macrófagos

O número e a função dos macrófagos não tem sido afetada pela idade.

## Resposta Humoral

Nos idosos saudáveis há um gradual aumento dos níveis de Imunoglobulina A (IgA) e Imunoglobulina G (IgG), enquanto que Imunoglobulina M (IgM) e Imunoglobulina G (IgG) permanecem nos menores níveis que nos jovens; às vezes, ocorre queda de IgM.

A consequência prática é uma redução da resposta humoral à vacina, incluindo para a hepatite B e algumas variedades de influenza. No entanto, a resposta à vacina para pneumococo não é alterada. (Mc Leman, et al. 1994)

## Resposta Celular

O timo é um órgão linfóide que aumenta de tamanho, da infância à puberdade, e segue em progressiva atrofia, tanto que, com 50 anos, já há metade de perda de massa deste órgão (Good, 1964).

A redução do timo ocorre por perda dos timócitos e células epiteliais. Este fato é geneticamente programado, e talvez a involução do timo tenha um papel causal relevante na imunossenescência.

As células epiteliais produzem e secretam vários polipeptídeos com: timosina a-1 (fator humoral tímico), fração 5 timosina, timulina, timopoetina e timoestimulação.

O nível de timosina a1 declina após os 20 anos (Mc Clure et al., 1982), assim como a redução da timopoetina. (Lewis et al., 1978)

Isto resulta em decréscimo na maturação de pré - T linfócito (Timócito), no que resulta em alterações de produção de linfocinas.

Em roedores, tanto fração 5 de timosina quanto timosina A-1, afetam *in vivo* o fator inibição de migração, os níveis de interleucina<sub>2</sub>, estando ainda sob investigação como a timosina pode influenciar os níveis de hormônio endócrino, entre eles corticotrófico e lutelizante.

O declínio dos níveis de fatores tímicos pode contribuir significativamente para a disfunção imunológica (Goldstein et al., 1981) (Zatz et al., 1985), tanto que a administração de fatores tímicos como: timoestimulina e timopoe-

tina, reduzem vários aspectos da disfunção imune, relacionados com a idade.

Estudos preliminares demonstram que a utilização de fração 5 timosina e timosina  $\alpha 1$ , tem sido usada em situações clínicas e tem demonstrado benefícios. (Kay, 1985)

## Linfócitos T

O idoso apresenta declínio na circulação de leucócito T em torno de 30%.

As subpopulações linfocitárias podem se identificar, como já referimos, por suas características próprias de superfície T Killer, T Helper e T Supressor. Esta identificação é realizada com o uso de anticorpos monoclonais aos antígenos da superfície celular, têm sido usado para quantificar e comparar linfócitos de diferentes sub populações, obtidas de pessoas jovens e idosos. (Weigle, 1993)

Os resultados ora apresentam dentro de uma faixa de normalidade ora reduzidos. (Barrett et al., 1980) (Nagel et al., 1983)

Há relatos inconsistentes para o número de células T Supressoras, e achados como: aumento, diminuição e falta de variação, já foram relatados. (Ceuppens et al., 1982) (Hallgren et al., 1983) (Nagel et al., 1983)

O declínio da proliferação dos linfócitos T (Rink et al. 1997) pode estar relacionado ao decréscimo de interleucina<sub>2</sub> (IL<sub>2</sub>) (Thorman et al. ,1982 ) ou ainda, pela queda da resposta das células T para IL<sub>2</sub>. (Mille, 1984).

Estes fatos conflitantes refletem a heterogeneidade fisiológica entre as pessoas idosas.

A resposta mitogênica dos linfócitos T com a involução do timo, é maior que a observada em timo de jovens (Baroni, 1983). Com a idade, o aumento da resposta mitogênica do timo as células T pode estar relacionado com o aumento da proporção de OKT<sub>3</sub> - positivo, que tem o antígeno T<sub>3</sub>. Células OKT<sub>3</sub> - positivo, são identificadas com base nos seus receptores de superfície, estes possuem uma ligação específica para os anti-corpos monoclonais chamados OKT<sub>3</sub>. Células com o antígeno de membrana T<sub>3</sub> são conhecidos por

serem mais sensíveis à mitogênese. No entanto, o aumento da prevalência desta subpopulação pode ser explicada, porque há um aumento da resposta mitogênica de células T com a idade.

No entanto, uma não modificação ou decréscimo OKT<sub>3</sub> no sangue, pode ser explicada pelo declínio das atividades mitogênicas do linfócito T no sangue periférico (Jensen et al., 1986).

Contudo, o declínio dos hormônios tímicos com o avançar da idade é um preditor de que haverá aumento de células T indiferenciadas (O' Leary et al., 1983), pois o crescimento e maturação das células T estará prejudicada.

Porém permanecem ainda questões para melhor conhecermos como se processa a involução do timo. Talvez outros fatores possam compensar a perda dos hormônios tímicos com a idade; de fato, algumas citocinas como a IL<sub>4</sub> e IL<sub>10</sub> aumentam com a idade (Cinadar 1992) (Rink et al., 1997).

#### Células Fagocitárias: Macrófagos

Os macrófagos são células derivadas da linhagem dos monócitos.

Os monócitos são menores que os macrófagos que circularão no sangue, infiltram-se em vários tecidos e diferenciam-se em macrófagos maduros.

Quando estão maduros, desenvolvem várias ações imunológicas como: fagocitose não específica e específica para antígenos e degradação do conteúdo das vesículas dos macrófagos pelas enzimas lisossomiais após fusão com os lisossomos. O macrófago, por suas características estruturais, pode aderir-se à superfície e ser o primeiro a reconhecer e identificar um antígeno. Em adição, macrófagos secretam IL<sub>1</sub> que pode modular a atividade do linfócito e a resposta imunológica.

A resposta das células T e B estão ligadas a uma inicial identificação do antígeno pelo macrófago, e este promoverá a proliferação de linfócito T e B.

Contudo, não são todos os macrófagos que têm esta função, outros ligam-se ao antígeno, presente nas células T helper e que serão poderosos indutores da proliferação de linfócitos.



## Atividade Fagocítica e Lisossomal

As atividades das enzimas lisossomais como B glucoronidase, fosfatase ácida e catipsin - D, estão significativamente elevadas nos idosos (Tyan, 1981).

Há uma degradação lisossomal de antígenos, assim como associação de antígeno com o fagócito; isto resulta em aumentar a atividade de fagocitose.

A atividade fagocítica permanece igual e levemente deprimida em idoso. (Bongrand et al., 1984) (Vetvick, 1985)

No entanto, as atividades fagocíticas das células polimorfonucleares, granulócitos e monócitos declinam com a idade. (Bongrand et al. 1984)

Não é claro porque enzimas lisossomais podem aumentar em idosos, enquanto declina a atividade fagocitária.

Há referência de que as células fagocitárias não são convertidas tão rapidamente com a idade e que o aumento dos leucócitos totais dá-se às custas de linfócitos B. (Tyan, 1977) (Moyser et al., 1977). Porém, as alterações relacionadas à idade, quanto à quantidade de enzimas lisossomiais e atividade fagocitária, parecem ser pequenas, porém contribuem para aumentar a incidência de infecção no idoso.

## Fagócitos Mononucleares

Os macrófagos e os monócitos desempenham papéis importantes nas respostas da imunidade celular. Além da fagocitose, essas células processam e apresentam antígenos para os linfócitos e secretam monocinas, tais como a interleucina<sub>1</sub> (IL<sub>1</sub>) que regula a função dos linfócitos T.

A fagocitose pelos macrófagos não parece ser alterada pela idade. Entretanto, essas células são parcialmente responsáveis pela imunossupressão, tanto a celular, como a humoral nos idosos. Os fagócitos mononucleares produzem a prostaglandina E<sub>2</sub> endógena (PG E<sub>2</sub>) que estimula a subpopulação de células T supressora. (Webb et al., 1978)

Embora essa produção de PG E<sub>2</sub> não esteja aumentada nos idosos, os

linfócitos senescentes são mais sensíveis aos efeitos supressores da PG E<sub>2</sub>. (Delfraissy et al., 1982) (Goodwin, 1982)

A proliferação linfocítica e a síntese de anticorpos in vitro, de pacientes idosos é normal, quando a produção de PGE<sub>2</sub> é inibida por indometacina. (Antonaci, 1983)

### Linfócito B e Produção de Anticorpos

Os linfócitos B provêm da medula óssea e secretam anticorpos específicos.

O número absoluto de linfócitos B na circulação periférica não é modificada com a idade. (Ceuppens et al., 1982)

Durante muitos anos a produção diminuída de anticorpos a antígenos específicos, tem sido ligada ao funcionamento aberrante das células T, tanto supressoras como auxiliares (Barrett et al., 1980).

As células B senescentes perdem também sua capacidade de funcionar e de responder normalmente. (Ceuppens et col, 1982) Para uma mesma quantidade de estímulo auxiliares, células B senis isoladas produzem menos anticorpos que as células B obtidas de indivíduos mais jovens. (Ceuppens et col, 1982)

As evidências sugerem que há um declínio na habilidade dos linfócitos B de produzir e secretar anticorpos específicos no idoso. (Manson - Smith, 1976) (Zharhary et al., 1984) Isto confirma-se com o trabalho realizado por Manson - Smith (1976 ), que após tratar um grupo de jovens e idosos saudáveis com polissacarídeos de pneumococo tipo III, concluiu que a produção de anticorpos pelos leucócitos B foi menor em idosos. No caso, o antígeno usado induz à produção de IgM, classe de imunoglobulina que predomina em animais idosos.

Normalmente, IgM é secretada durante as respostas primárias a antígenos, e apenas linfócitos B maduros secretam IgG.

Há evidência contrastante sobre a produção de anticorpos produzidos por células B e número de subpopulação que não sofrem alterações com a idade.

Em animais, (rato) o número de células B, respondem ao estímulo do antígeno viral (PR8 influenza), que não é modificada pela idade. (Zharhary et al., 1984)

O declínio da resposta dos linfócitos B com a idade, tem sido descrito por autores. (Gorczymsky et al., 1983) (Whistler et al., 1985)

Subpopulações de linfócitos B são influenciadas, negativamente, pela idade, tanto que a administração de alguns antígenos, resulta em menor resposta de produção de anticorpos; paradoxalmente, os auto-anticorpos estão aumentados, podendo isto ser explicado pela maior atividade de células T supressoras. (Wedler, 1981)

As células B são classe de células que diferem no estado de maturação, componentes de superfície e mecanismo pela qual são ativadas.

As células B provêm da medula óssea em adulto, quando maduras diferenciam-se em células menores e células maiores no plasma; este processo ocorre predominantemente em órgãos linfóides secundários, como nódulos linfáticos e baço.

As células do plasma migram para a medula óssea, para o processo de maturação, quando já aptas a secretar imunoglobulinas. Subseqüente reexposição para um idêntico estímulo, resultará em rápida proliferação e diferenciação em células B menores, acompanhados de um rápido aumento no nível específico de imunoglobulina.

As células B possuem também ativação através de receptores de superfície celular.

A membrana celular dos linfócitos B é caracterizada por vários receptores de proteína. Cada um destes receptores pode interagir com várias moléculas ou também com citocinas, ou apenas ligar-se ao receptor de superfície.

Os maiores receptores de superfície dos linfócitos B são: receptor para antígeno.e marcadores de superfície , CD4, CD19, CD 21, CD 35, CD45, adesão molecular, receptor de citocina (IL<sub>2</sub>, IL<sub>4</sub>, IL<sub>10</sub>, IL<sub>6</sub> , e fator  $\beta$  crescimento) além do receptor de célula B de antígeno classe II para moléculas.

O mais conhecido marcador de superfície é o receptor celular B de antígeno.

Outro muito importante é o CD5, que aumenta nas doenças autoimunes como por exemplo, artrite reumática.

O antígeno leucócito humano classe molecular II, que pode ser a chave da interação com células T (Viletta et al., 1987), e os receptores das interleucina: IL<sub>1</sub>, IL<sub>2</sub>, IL<sub>4</sub>, IL<sub>6</sub>, fator de necrose tumoral (TNF) e fator  $\beta$  de crescimento e transformação.

A resposta dos linfócitos B à interleucina<sub>2</sub>, produz as imunoglobulinas IgM, IgG e IgA. (Richmond et al., 1993), podendo também a IL<sub>2</sub> induzir o linfócito B a produzir outros sítios de receptores.

A IL<sub>6</sub> é uma glicoproteína essencial à maturação de células do plasma (Brieva et al., 1991) e também desenvolve um importante papel no desenvolvimento do mieloma múltiplo.

O grau de declínio da função imune que ocorre com aumento da idade não é proveniente da imunidade humoral (LB) e sim da imunidade celular (Kay, 1983).

## 2.5 - Citoquinas

O processo imuno-inflamatório é um processo de defesa à resposta infecciosa e adaptativa ao estresse para sobrevivência do hospedeiro. (Perlmutter et al., 1986)

As citoquinas são proteínas solúveis produzidas por linfócitos, monócitos, macrófagos, fibroblastos e outras células, com a finalidade de estabelecer a comunicação entre estes elementos, daí também a denominação interleucina (IL) recebida por algumas destas substâncias. (Lowry, 1993)

Exercem sua função através da ligação com receptores específicos na superfície celular e apresentam como principais características o pleiotrofismo (cada citoquina tem múltiplas funções biológicas) e a redundância (mais de uma citoquina exercendo a mesma função). (Lowry, 1993) Os receptores de citoquinas podem ser ligados à membrana celular ou solúveis (receptores de

membrana liberados na circulação) e são responsáveis não só por mediar as atividades biológicas das próprias citocinas, como também por controlar a dessensibilização para outros ligantes, reduzindo a sua disponibilidade. (Gally et al., 1996) (Savaris, 1998) Desta forma, estas substâncias promovem o controle de diferentes aspectos da resposta imune e inflamatória (Levy et al., 1943), e dentre suas funções destaca-se a apresentação antigênica, a diferenciação em nível de medula óssea dos linfócitos, o recrutamento e a ativação celular das moléculas de adesão e as respostas de fase aguda (imediate) inflamatória. A natureza das citocinias secretadas, determina o tipo de resposta imunológica: humoral, celular ou alérgica que sucederá .

Diferentes citocinas podem compartilhar de idênticos receptores, promovendo respostas imunológicas semelhantes. (Geller et al., 1997)

As citocinas exercem várias funções na imunorregulação celular e imunoral, como demonstra o quadro nº 1.

## Quadro nº 1

### Atividades Imunológicas das Citoquinas

<b>Citoquinas</b>	<b>Origem celular</b>	<b>Atividades Biológicas</b>
IL-1	Macrófagos	Ativação de linfócitos T; aumento de IL-2; aumento da resposta imune
IL-2	Linfócitos T	Ativação e crescimento de linfócitos T
IL-3	Linfócitos T	Fator de crescimento hematopoético (múltiplas colônias)
IL-4	Linfócitos T	Fator de crescimento para mastócitos, linfócitos T e B; síntese de IgE pelos linfócitos B
IL-5	Linfócitos T	Fator de crescimento de linfócitos B; síntese de IgA; ativação e proliferação dos eosinófilos
IL-6	Macrófagos e Linfócitos T	Diferenciação de linfócitos B; ativação de linfócitos T; aumento de IL-2
IL-7	Medula óssea e Timo	Fator de crescimento para linfócitos B
IL-8	Macrófagos	Quimiotaxia para neutrófilos; regulação da liberação de histamina
IL-9	Linfócitos Th2	Estimulação hematopoética
IL-10	Linfócitos Th1 e Th2	Inibição da síntese de gama-interferon por linfócitos Th1; diminuição da expressão de MHC-II; ação antiinflamatória
IL-11	Medula óssea e fibroblastos pulmonares	Fator estimulador de colônias
IL-12	Linfócitos B, monócitos e macrófagos	Aumento de TNF-alfa e de gama-interferon; estimulação da proliferação de células CD4 e CD8; diferenciação das células Th1; ativação de células NK e LAK
IL-13	Linfócitos Th2	Estimulação da síntese de IgE; ativação de linfócitos B e monócitos
TNF	Macrófagos, linfócitos T, mastócitos e células NK	Atividade antitumoral; quimiotaxia de monócitos; expressão de MHC-II nas células apresentadoras de antígenos
Alfa-IFN Beta-IFN	Linfócitos B e macrófagos; fibroblastos e células epiteliais.	Atividade antiviral e antitumoral; aumento da atividade citotóxica linfocitária; aumento da expressão de MHC-II
Gama-IFN	Linfócitos T	Antagonismo de Il-4 e da síntese de IgE
TGF-Beta	Linfócitos T e B, plaquetas, células renais, ósseas e placentárias	Síntese de IgA; supressão da atividade citotóxica
GM-CSF	Linfócitos T, fibroblastos e células endoteliais	Estimulação das colônias de granulócitos, macrófagos e eosinófilos; ativação de neutrófilos e eosinófilos
Ligante C-kit	Fibroblastos e hepatócitos	Proliferação de mastócitos; estimulação da liberação de leucotrienos e de histamina

### 2.5.1 - Interleucina<sub>1</sub>

A família IL<sub>1</sub> é representada por três peptídeos: IL<sub>1</sub> alfa, IL<sub>1</sub> beta e IL<sub>1</sub> gama.

O IL<sub>1</sub> gama é antagonista do receptor de IL<sub>1</sub>. (Oppenheim J.J. et al., 1986) (Dinarello, 1992) (Dinarello et al., 1993)

A IL<sub>1</sub> alfa e IL<sub>1</sub> beta possuem atividades biológicas similares, e todos os três peptídeos interagem com os receptores de IL<sub>1</sub> com semelhantes afinidades (Dinarello, 1992). Há dois tipos de receptora IL<sub>1</sub>: os receptores do tipo I, encontrados em linfócitos T, células endoteliais e hepatócitos, e os receptores do tipo II, encontrados em linfócitos B, neutrófilos e células da medula óssea. A ligação da IL<sub>1</sub> ao receptor tipo I, traduz-se em respostas pró-inflamatórias; em contrapartida, a ligação de IL<sub>1</sub> ao receptor tipo II e sua posterior internalização, induz respostas antiinflamatórias (Sims et al., 1993). A capacidade de se ligar ao receptor tipo I sem ocasionar respostas biológicas faz do IL<sub>1</sub> gama uma citocina antagonista da resposta inflamatória (Arend, 1993).

A IL<sub>1</sub> é sintetizada principalmente por células fagocíticas mononucleares, mas também é produzida por células endoteliais, células sinoviais, astrócitos, osteoblastos, neutrófilos e células neurogliais

Endotoxinas, outras citocinas, microorganismos e outros antígenos estimulam a produção de IL<sub>1</sub>.

A IL<sub>1</sub> funciona como fator de ativação de linfócitos. Os linfócitos T auxiliares requerem a interação do complexo - MHC-complexo de histocompatibilidade maior, ligado ao antígeno com o receptor presente na superfície linfocitária. No entanto, a presença de IL-1 é necessária para que haja ótima ativação e proliferação das células T. A IL<sub>1</sub> induz a síntese de outras interleucinas no linfócito T. Isso também ocorre com a IL<sub>2</sub>; na sua ausência não ocorre resposta imune ou então se estabelece um estado de tolerância. A IL<sub>1</sub> estimula a proliferação de linfócito B e aumenta a síntese de imunoglobulinas.

A IL<sub>1</sub> também atua sinergicamente junto a fatores de estimulação de colônias para promover a proliferação de células progenitoras na medula

óssea; na resposta imunológica, IL<sub>1</sub> interage com o sistema nervoso central, resultando em febre, letargia, sono de ondas lentas, anorexia e produção de fator de liberação de corticotrofina. (Geller et col, 1997)

A IL<sub>1</sub> estimula a aderência de leucócitos às células endoteliais da estimulação positiva que exerce sobre a síntese e expressão das moléculas de adesão (ICAM). (Wegner et al. 1990)

Muitas das atividades pró-inflamatórias de IL<sub>1</sub> se devem à indução do metabolismo do ácido araquidônico por esta citoquina, como síntese de prostaglandina E<sub>2</sub> e de leucotrieno B<sub>4</sub>, que atuam como “segundos mensageiros” da inflamação. A IL<sub>1</sub> induz a síntese de outras interleucinas, como TNF, IL<sub>6</sub>, (GM - CSF), e da própria IL<sub>1</sub>.

Assim como TNF, a IL<sub>1</sub> é diretamente citotóxica para células neoplásicas e células infectadas por vírus. O TNF e IL<sub>1</sub> compartilham de muitas atividades biológicas, com a diferença, de que o TNF não atua diretamente sobre a proliferação linfocitária.

Os antagonistas dos receptores de IL<sub>1</sub> são secretados naturalmente durante o processo inflamatório: A IL<sub>1</sub> gama pode modular negativamente os efeitos potencialmente deletérios da IL<sub>1</sub> durante a resposta inflamatória.

A IL<sub>2</sub> tem sua produção reduzida no idoso, porém sabe-se que a IL<sub>2</sub> é liberada pelos linfócitos em resposta à liberação da IL<sub>1</sub>, que é liberada pela macrófago; se isto não ocorrer, acarreta não diferenciação de linfócito. (Thoman et al. 1983) (Schwab et al., 1985) (Mac Lenan et al., 1994)

A IL<sub>1</sub> assim como outras citoquinas como : IL<sub>2</sub>, IL<sub>6</sub>, IL<sub>8</sub> e fator de necrose tumoral, são pró-inflamatórias.

### **2.5.2 - Interleucina<sub>2</sub>**

A ativação de linfócito T devido à presença de antígeno e de IL<sub>1</sub> induz simultaneamente à secreção de IL<sub>2</sub> e à expressão de receptores de IL<sub>2</sub> de alta afinidade na superfície dessas células. A ligação de IL<sub>2</sub> com seus receptores induz à expansão clonal de linfócitos T específicos para o antígeno apresentado ao sistema imunológico.



Os receptores de IL<sub>2</sub> são constituídos por três cadeias peptídicas: IL<sub>2</sub> r alfa, IL<sub>2</sub> r beta e IL<sub>2</sub> r gama, sendo esta última essencial para a ligação e internalização de IL<sub>2</sub>, e também para a sinalização celular IL<sub>4</sub> IL<sub>7</sub> IL<sub>9</sub> IL<sub>13</sub> IL<sub>15</sub>, que têm a cadeia gama como parte de seis receptores. A ausência de cadeia gama é responsável por uma forma de imunodeficiência combinada, ligada ao cromossoma X, refletindo a importância desta cadeia na sinalização celular em resposta a diversas citocinas. (Noguchi et al., 1993)

Os receptores de IL<sub>2</sub> são também encontradas na superfície de células NK (*Natural Killer*), através dos quais a IL<sub>2</sub> induz à resposta citotóxica.

A IL<sub>2</sub> atua como ativadora de linfócito B, linfócito T citotóxico e macrófagos e pode funcionar como neurotransmissora.

O idoso tem uma redução de produção de IL<sub>2</sub> com séria consequência para imunidade, principalmente para os linfócitos T. (Mc Lenann, 1994)

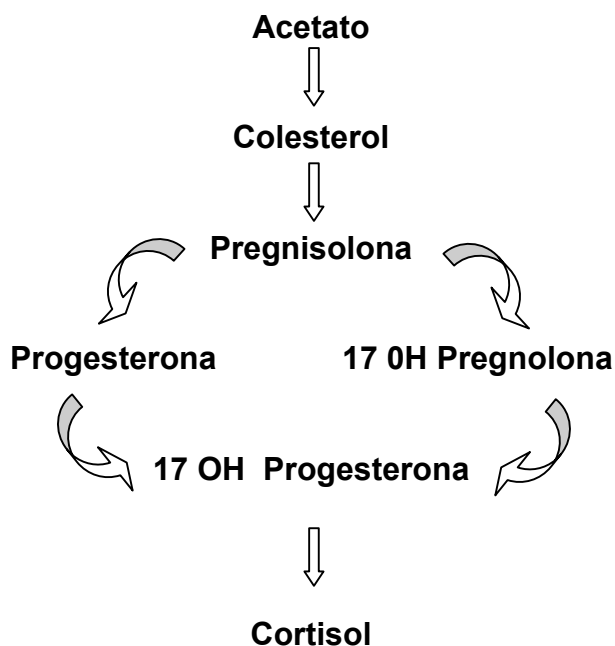
O decréscimo de síntese de IL<sub>2</sub> reflete a redução no número de células que produzem IL<sub>2</sub>.

Estas mudanças são evidenciadas em humanos e ratos. (Gillis et al., 1981) (Gilman et al., 1982) (Weitz, 1993)

## **2.6 - Cortisol**

As glândulas adrenais são duas e localizam-se nos pólos superiores renais e são compostas de duas partes distintas, o córtex adrenal e a medula adrenal.

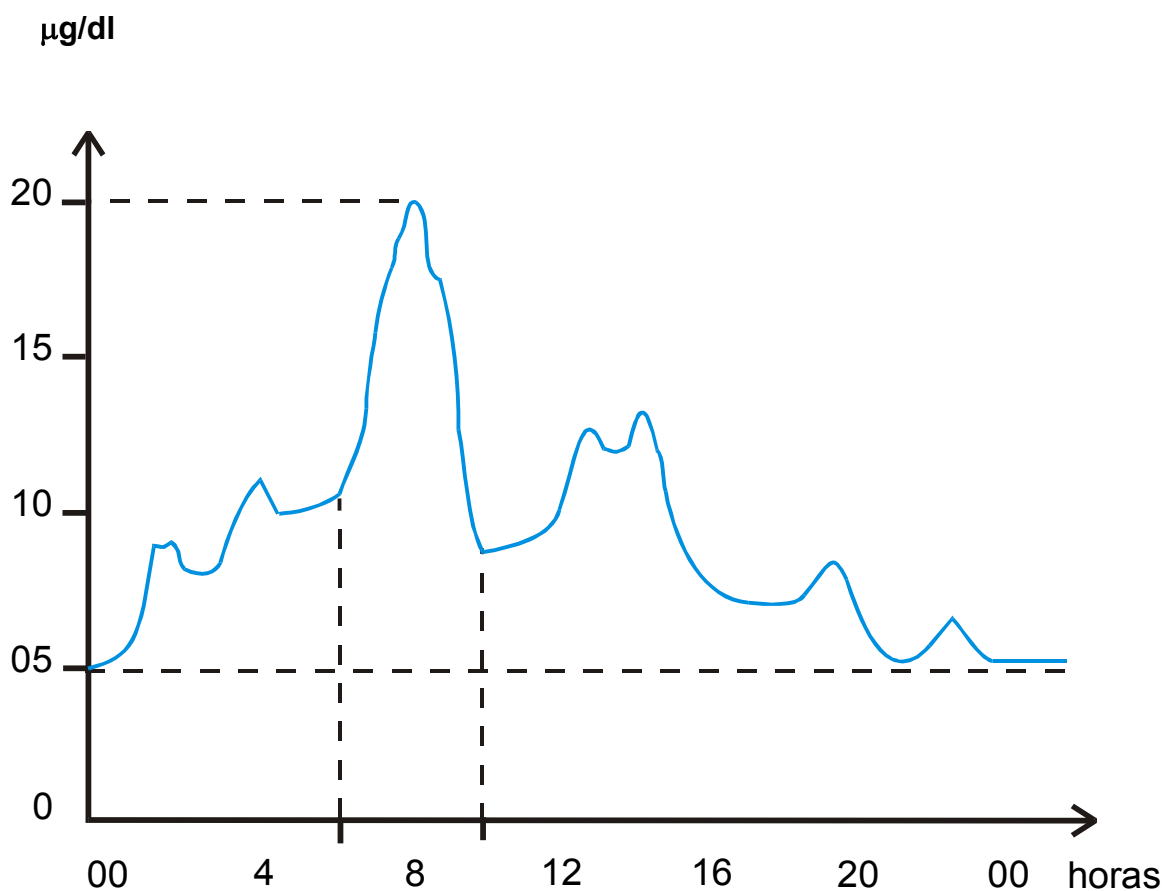
A glândula adrenal tem 80% de seu conteúdo como córtex e secreta diferentes grupos de hormônios chamados corticoesteróides, sendo o mais importante para função endócrina normal humana o cortisol. (Guyton et al. 1996)

**Figura 1 - Síntese do Cortisol**

O cortisol possui um ritmo de liberação (ritmo circadiano) que se altera com as horas do dia.

Pela manhã, (6 às 8 h), é alta, em torno de 20 mg/dl no plasma e decai para 8 mg/dl às 20 horas. Este ritmo mantém-se em pessoas que não alterem seu ciclo de sono, em função de trabalho noturno, sendo que este mesmo ritmo é mantido no idoso. (Rocha et al., 1997)

**Figura nº 2 - Ciclo Circadiano**



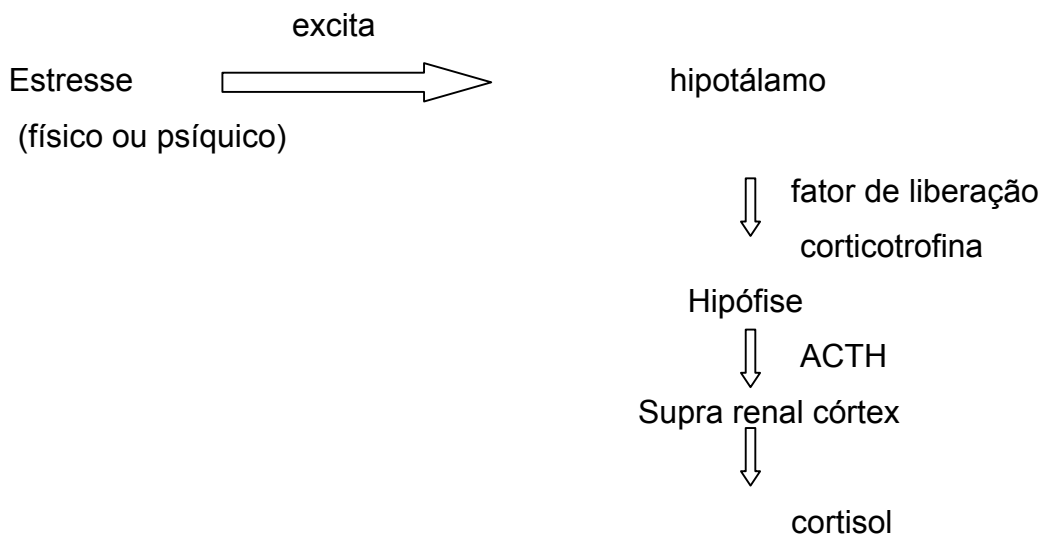
Padrão típico da concentração de cortisol durante 24 horas/dia (ritmo circadiano).

As alterações da concentração cortisol plasmática ocorrem em situações de estresse físico ou mental, que induz a um aumento do nível cortisol.

Este aumento é induzido por estimulação da porção anterior da hipófise, que libera o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH.) que estimula a produção de cortisol.

O estímulo doloroso, o dano tissular e o estresse psíquico, quando presentes, juntos ou isolados, conduzem estímulos à eminência média do hipotálamo, que libera os fatores de liberação da corticotropina no sistema portal hipofisário, e este estimulará a hipófise a liberar o ACTH, que estimulará a glândula supra-renal a liberar cortisol no plasma. (Guyton, 1996).

**Figura 3 - Mecanismo de Regulação de Secreção de Cortisol no Plasma**



Quando o cortisol encontra-se elevado no plasma (intenso estresse físico ou psíquico), resulta num decréscimo no número de eosinófilos e linfócitos no sangue; estes efeitos começam rapidamente, em minutos, após o aumento do cortisol e permanece por horas. (Goodman, 1994) (Kloet, 1994)

A linfocitopenia ou eosinopenia é um importante critério de monitoramento da elevação plasmática do cortisol.

Em decorrência deste estímulo, pode ocorrer atrofia de todo tecido linfóide e decréscimo da produção de células T. Isto resultaria num decréscimo de defesa orgânica. Caso ocorra invasão de microrganismos patogênicos, pode ocorrer infecção. As células de defesas não estarão em condições numérica e diferenciadas para realizar a resposta imune, possibilitando a grave infecção, que pode resultar em num aumento da morbidade e mortalidade. A mortalidade por infecções pós operatórias pode alcançar percentuais elevados (60%), sendo necessárias ações preventivas, para minimizar tais resultados. (Pacelli et al., 1996)

Promover atos anestésicos com adequada analgesia per e pós-anestésica, reduzindo a liberação de cortisol, é uma medida além do tratamento da própria dor, e também reduz as possibilidades de infecção e, com isto, a mortalidade, morbidade, tempo de permanência hospitalar e viabilizando o retorno ao convívio familiar e comunitário mais rápido.

Este enfoque faz o ato anestésico ser um co-fator predisponente a infecções pós operatórias, sendo um fato importante em Saúde Pública a condução e resultados desta intervenção, principalmente naqueles que se encontrem com deficiência nas suas resposta imunes .

Por outro lado, o cortisol é capaz de impedir a resposta imunológica à rejeição de transplantes de órgãos ou de tecidos (Berczi, 1998). Portanto, o estresse é um fator que tem uma importante função na degeneração ou manutenção dos processos biológicos de inflamação e imunidade (Anisman et al. 1996). No entanto, o sistema imunológico, quando exposto a antígenos (ex: bactéria), induz ao aumento de secreção de corticotrofina pela hipófise e cortisol pelo córtex supra-renal; esta liberação é promovida pela liberação de interleucina<sub>1</sub>, dentre outras interleucinas que atuam diretamente no hipotálamo.

A corticotrofina assim estimulada, mantém os níveis de estímulo de produção do cortisol, agravando a depressão imunológica (figura 4). (Kiecolt et al., 1991)

#### **Figura nº 4 - Liberação de Cortisol e Alterações Imunológicas**

Estresse  $\implies$  hipófise  $\implies$  hormônio corticotrófico  $\implies$  córtex supra-renal  $\implies$  cortisol  $\implies$  timo e órgão linfático involução  $\implies$  decréscimo de linfócito T, eosinófilo e liberação de mediadores inflamatórios .

### **2.7 - Radicais Livres e Estresse Oxidativo**

As primeiras formas de seres vivos que povoaram a superfície terrestre eram unicelulares e formavam adenosina trifosfato (ATP) na ausência de oxigênio; estes seres eram anaeróbios, no entanto, as modificações físico-químicas que ocorreram na terra e no universo, determinaram a evolução das espécies, até chegar ao homem; (constituído de trilhões de células e necessitando de oxigênio como fonte de energia, ser aeróbico).

Neste processo evolutivo, o homem deixou remanescentes do seu

sistema anaeróbio, que vale a pena lembrar, para melhor compreensão de como são formados os Radicais Livres (RLs), além de como o oxigênio tornou-se a principal origem dos agentes oxidantes teciduais.

Pelo metabolismo anaeróbio, toda molécula de glicose termina dando 4 moléculas de ATP e tendo um gasto de 2 moléculas neste percurso, dentro do ciclo de Embden Meyerhoff, um ganho final de 2 moléculas de ATP e um subproduto final denominado de ácido pirúvico; este, por sua vez, quando entra no ciclo de Krebs, que representa a fase aeróbica da formação de energia, onde 38 moléculas de ATP são sintetizadas, consumidas 2 moléculas de ATP para consolidar o ciclo, determinando um ganho final na fase aeróbica, de 36 moléculas de ATP. Este resultado representa 18 vezes mais ATP do que a obtida na fase anaeróbica. (Guyton, 1996 , p856)

A fase aeróbica é fundamental e determinante na manutenção da vida, como fonte primária de formação de energia, porém, como consequência dos remanescentes anaeróbicos no organismo humano, o oxigênio tem potencial de apresentar-se como tóxico, através de seus metabólicos intermediários, que podem alterar a estabilidade dos tecidos.

Chama-se de RL toda molécula que tem um elétron ímpar na sua órbita externa.

Como moléculas estáveis têm a presença de elétrons pareados na sua órbita externa e quando por fenômeno de oxidação, perde ou ganha elétrons, tornando-se instáveis, resultando numa vida média curta.

Este processo é uma cascata, que só termina quando dois Radicais Livres se encontram, onde um ganha e outro perde o elétron da órbita externa, deixando portanto de ser um Radical Livre.

Sabemos que 2-5% do oxigênio inspirado tornam-se Radicais Livres. (Olszewer, 1997 p 28)

Portanto, o oxigênio é imprescindível à vida do homem e, por outro lado, tem potencialidade tóxica .

Sob condições fisiológicas, por mecanismo bioquímicos, podem-se neutralizar tais espécies instáveis de  $O_2$  , que se não removidas poderiam propiciar danos à arquitetura de organelas celulares. (Signorini, 1993)

No curso do envelhecimento orgânico há aumento de Radicais Livres e suas conseqüências vão somando-se no decurso da vida.

No envelhecimento há maior produção de Radical Livre, devido à redução de enzimas e de outros processos de eliminação deste radicais. (Zelnilman, 1994) (Fiel Ding, 1997)

Um dos primeiros trabalhos demonstrando que há um aumento mais intenso e prolongado dos Radicais Livres em ratos senis (18 meses) do que em ratos jovens (6 meses), foi realizado por Nohl et al. (1978) e confirmada por Sawada et al. (1992).

Na senescência há um desequilíbrio na produção e eliminação dos Radicais Livres, fato denominado estresse oxidativo. (Sies, 1985) (De Grey, 1997) (Bhagwat, 1997)

Este desequilíbrio pode acarretar eventos fisiopatológicos ou o agravamento dos mesmos. (Sies, 1986) (Reiter et al., 1997)

Estes fatos trouxeram um novo campo de investigação científica para a Biologia e a Medicina. (Hallweill, 1990)

Durante o estresse oxidativo, há redução da imunidade celular, aumentando os riscos de infecção (Kjeldsen, 1996), tanto que há trabalhos científicos demonstrando que o tratamento com substâncias antioxidantes melhoram a imunidade celular e humoral. (Cutler, 1975) (Kay, 1976) (Harman, 1977)

Os Radicais Livres são produzidos no homem por fontes externas ( ex: fumo, radiação) e endógenas (ex. catecolaminas, prostaglandina), têm uma meia vida de 10 ms (milisegundo) e são metabolizados por enzimas como: catalase, superóxido-dismutase (SOD) e glutatião peroxidase (GP) (Póvoa, 1987).

Apesar do reduzido tempo de ação dos RLs , estes são capazes de lesar a membrana celular, através da peroxidação lipídica, oriundas da agressão dos metabolismos tóxicos do oxigênio nos ácidos graxos polinsaturados que formam as membranas celulares. Estas membranas são particularmente suscetíveis ao ataque dos RLs.

O efeito global da peroxidação lipídica é diminuir a fluidez das

membranas celulares , desestabilizando os receptores da mesma. Além do mais, os anticorpos fosfolipídicos podem ser induzidos como resultado dos danos oriundos dos RLs .

Os produtos da peroxidação lipídica e, particularmente, os derivados aldeídos, podem inibir a síntese protéica, bloquear a ação dos macrófagos e provocar alterações na quimiotaxia e na atividade enzimática. (Fleischer, 1983) (Rhoder, 1990) (Gao, 1990)

A peroxidação lipídica pode alterar a resposta inflamatória saudável e a desregulação imune freqüentemente observada nas doenças inflamatórias, nas quais há acentuado estresse oxidativo. (Fleischer, 1983)

Estes trabalhos correlacionam que o estresse oxidativo pode alterar a resposta imuno-inflamatória .

No entanto os RLs têm um caráter bifacial, tanto pode agredir as membranas celulares, dentre elas as plasmáticas, como participar de reações protetoras como a fagocitose.

O papel direto dos Radicais Livres de oxigênio na morte dos micróbios, descrito por Babior, 1978 permanece válido.

Em humanos, quando ocorrem doenças granulomatosas crônicas, o sistema do citocromo b 245 NADPH oxidase flavoproteína está ausente ou é anormal.

Esta alteração enzimática decorre da ação dos RLs nos neutrófilos e eosinófilos, resultando em infecções bacterianas persistentes. (Segal, 1985)

Durante a fagocitose, as células consomem quantidades elevadas de oxigênio, um processo denominado explosão respiratória (ER ).

A ativação resulta numa produção aumentada de NADPH, via desvio da hexose monofosfato e a geração dos radicais: ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila e o ácido hipocloroso, que são espécies reativas de oxigênio, que danificam as membranas celulares.

O processo fagocítico é uma defesa importante contra uma série de microorganismos patogênicos. Este processo é extremamente complexo e ainda envolve a enzima fosfolipase - A, que formará os eicosanóides, importantes na resposta inflamatória. No entanto, os eicosanóides formados



aumentarão os Radicais Livres.

Diferentes métodos têm sido desenvolvidos para obter uma medição quantitativa e qualitativa dos Radicais Livres.

O mais específico é a espectoscopia de ressonância magnética, que tem um custo operacional alto e não está disponível no Brasil.

As medições bioquímicas via plasma são as mais usuais no Brasil .

As técnicas de quimioluminescência ou técnica de Cohen e a de lipoperóxidos nas hemácias são amplamente usadas. (Sato, 1978) (Póvoa, 1990)

## **2.8 - Efeitos dos Agentes e Técnicas Anestésicas na Resposta Imune do Idoso**

Como há crescente demanda de atendimento ao idoso que envolva ato anestésico, a atenção e pesquisa nesta área médica têm crescido.

Numa pesquisa americana realizada por Bruel, 1993, o número de artigos sobre anestesia no idoso passou de 176 entre 1974 a 1983 para 543 entre 1984 a 1993.

Contudo, apesar do significativo aumento de publicações, para melhor entendimento do processo do envelhecimento fisiológico e os efeitos que a anestesia possa promover no idoso, o enfoque principal é sobre os resultados de mortalidade e morbidade oriundos do sistema cardiovascular no per e pós-anestésico. (Bode et al. ,1996)

A resposta imunológica após ato anestésico sofre alterações em faixas etárias diversas. (Delogu, 1989) (Seitz, 1991) (Eriskine et al., 1994) (Beillin, 1996) (Koltren et al., 1996) Assim como em pacientes portadores de neoplasia maligna tem redução da resposta celular. (Eriskine et al., 1994) (Murill et al., 1996) (Xu et al., 1998)

As alterações da função imunológica do idoso têm variáveis como: alteração da dieta alimentar, produção de Radicais Livres, alterações tóxicas, manipulações endócrinas, excesso de exercício físico, alcoolismo e tabagismo dentre outras. (Venjatraman et al., 1997)

O que ocorre com o idoso brasileiro em relação à resposta imunológica após o ato anestésico, não é conhecido, tendo em vista as considerações da nossa população (genéticas, culturais e do meio ambiente).

O ato anestésico (sem trauma cirúrgico) é capaz de reduzir a função dos granulócitos nos pacientes imunodeprimidos, tanto por causa adquiridas, como SIDA, gravidez e senilidade. (Cattaneo, 1985) (Delogue, 1989) (Verhoef, 1990) (Seitz, 1991) (Lauro, 1994)

O mecanismo básico proposto por alguns autores é de que o ato anestésico promoveria a redução das neoglicoproteínas, o que resultaria na não ativação dos macrófagos, impedindo o processo de fagocitose dos microorganismos Nunn (1982), Prasad (1992), assim como reduziria os linfócitos T. (Muriel et al., 1996)

As referências sobre o menor impacto sobre as respostas imunes, recaem sobre as técnicas espinhais (raquianalgésia e peridural). (Cullen et al., 1975), (Hole et al., 1982) (Whelan et al., 1982), (Takenada et al., 1995)

No entanto, estes trabalhos restringem-se quase sempre a cirurgias vasculares e ortopédicas, com faixas etárias que às vezes incluem idosos, não sendo possível avaliar só os idosos

A anestesia geral, por ser uma técnica que requer um maior número de fármacos para sua elaboração, têm demonstrado maior grau de comprometimento da resposta imunológica, principalmente em cirurgias cardíacas com circulação extra-corpórea. (Barclosi, 1992) (Canera et al., 1993)

Pesquisadores têm como consenso que há um potencial impacto dos agentes anestésicos na resposta imune (Walton, 1979). Este interesse ressurge com o aumento do índice de infecção em pacientes após o ato anestésico. (Cruse, 1973)

Tem sido demonstrado que há depressão da medula óssea, após exposição anestésica por 6 horas consecutivas, e esta retorna as funções normais entre 6 e 7 dias após a exposição (Estola et al., 1984). Este trabalho demonstra a vulnerabilidade a que esta população foi exposta, a contrair uma infecção. Neste estudo, a idade dos componentes era de 40 a 60 anos, e tendo sido empregada num grupo técnica anestésica geral com macrodoses

de fentanil acima de  $50 \text{ ug kg}^{-1}$  e, mesmo assim, houve alterações imunes; no entanto em cirurgias com duração menor que 1 hora e 30 minutos, realizadas numa população entre 20-45 anos, com técnica anestésica geral (fentanil, dehidrobenzoperidol e protóxido de nitrogênio) não houve alteração das populações T e B, nem da forma ativa de linfócito T (população de linfócitos que formam rosetas depois de um breve período de incubação). (Pacheco et al., 1984)

Tonnesen (et al., 1988), encontrou resultado conflitante em mulheres entre 36-50 anos, com a mesma técnica anestésica para um tempo de exposição entre 2 e 3 horas. Neste caso, observou-se leucocitose, linfopenia (principalmente os linfócitos T), sendo o tempo de exposição a estes fármacos um fator importante para determinar alterações imunológicas.

Quanto ao tempo que perduram tais alterações, os estudos demonstram que é mais intensa nas 24 h após a intervenção e que permanece por 7 a 14 dias.

Permanece mais tempo quanto mais longa for a duração do ato anestésico-cirúrgico. (Park et al., 1971) (Slade et al., 1975). No entanto, morbidades pré-anestésicas, como patologias cirúrgicas cardíacas e neoplasias malignas, podem também predispor a tais alterações. (Park et al., 1971) (Mc Irvine et al., 1983) (Velasco et al., 1996)

Diversos autores confirmam a ausência de alterações das populações de linfócito T e B com o uso isolado do protóxido de oxigênio (Parbrook, 1967), (Bruce et al., 1972); esta alteração só é confirmada em exposição crônica. (Medici et al., 1992)

Os anestésicos halogenados (halotano e enflurano), também alteram a resposta imune quando há exposição por mais de 3 horas. (Cattaneo et al., 1985)

Os benzodiazepínicos usados como pré-anestésico para promover sedação e efeito ansiolítico, não têm demonstrado alterar a imunidade (Pacheco et al., 1984a), assim como os relaxantes musculares, em especial o brometo de pancurônio. (Pacheco et al., 1984b)

Quando há associação de fármacos, como é comum num ato anestésico

sob anestesia geral, por exemplo, halotano e prótotoxico de oxigênio, ocorre redução da população de linfócito T e B. (Bruce et al., 1972)

O Thiopental sódico usado para indução venosa anestésica, apresenta efeito depressor da função dos monócitos e linfócitos. (Hole, 1984)

Etomidato tem sido referido como um redutor da quimiotaxia dos polimorfonucleares. (Knudsen, 1987)

Os resultados melhores em relação à população de linfócito T são com as técnicas de bloqueio espinhais (raquianalgesia e peridural), quando utiliza-se só anestésicos locais. (Rem, 1980) (Hole, 1984) (Stevenson et al., 1990) (Takeada et al., 1995)

As técnicas de bloqueios espinhais, quando o anestésico local é associado a opióide, aumenta a incidência de herpes labial em pacientes imunodeprimidos. (Crone, 1988 e 1990) (Ayers, 1993) (Shapiro et al., 1994)

O linfócito B decai com a exposição de agentes anestésicos e o trauma cirúrgico. (Eskola et al., 1984) (Stevenson et al., 1990)

Os agentes anestésicos, quando administrados em pacientes mesmo sem trauma cirúrgico, são capazes de impedir as *Natural Killer Cells* de atuarem por até 10 dias de pós- anestésico (Stevenson et al., 1990) (Marconic, 1993) (Clark, 1993).

*In vitro*, os monócitos têm sua quimiotaxia, impedida em resposta à ação de agentes inalatórios como halotano, enflurano e protóxido de oxigênio (Moudgil et al., 1984), com isso diminui a fagocitose. (Barth et al., 1987)

No entanto, em outros estudo *in vitro* não confirmaram estas mudanças nos parâmetros funcionais dos polimorfonucleares. (Cullen, 1974), (Moudgil, 1981), (Knudsen, et al. 1987)

*In vivo*, há aumento numérico dos polimorfonucleares na circulação periférica de voluntários jovens, sem exposição a procedimento cirúrgico. (Ducan et al., 1976) (Hill et al., 1977)

Todavia, este aumento não foi relacionado se é oriundo da liberação dos polimorfonucleares da medula óssea ou se há menor aderência aos vasos sanguíneos e, por isso, eles são encontrados em maior número na circulação.

Sabendo-se que quando há estresse adaptativo (trauma) ocorre liberação

de catecolaminas e que esta reduz a aderência dos polimorfonucleares aos vasos sanguíneos favorecendo sua circulação periférica, (Stevenson et al., 1990); nos estudos de Ducan e Hill não foi aferida esta correlação.

Com o evoluir da Farmacologia, surgiram novos fármacos anestésicos para uso via inalatória ou venoso, sendo escassos estudos científicos sobre a influência destes agentes na resposta imunológica do idoso.

O isoflurano, agente anestésico volátil, é usado freqüentemente em anestesia geral em idosos, devido ao seu baixo índice de metabolização e bons resultados na função cardiovascular, Baden et al. (1990), porém têm-se poucos estudos sobre sua influência na resposta imune.

Estudo realizado por Canera et al., (1993), demonstrou que o isoflurano produziu uma depressão de monócitos, mais intensa do que o alfentanil (opióide de curta duração).

Já o propofol (derivado alquifenólico), fármaco venoso utilizado para indução e manutenção anestésica, tem sido relacionado com poucas alterações imunológicas (Varagnoli, 1992), e possuir ação antioxidante (possui um grupo fenol hidroxil que doa um átomo de hidrogênio neutralizando os Radicais Livres). (Kahraman et al., 1997) (Stratford et al., 1997) (Green et al., 1998)

O ato anestésico é composto de vários fármacos associados para promover: hipnose, analgesia e relaxamento muscular; isso se a opção possível é a técnica de anestesia geral.

Nesta tese, não é intenção separar as ações dos fármacos empregados na técnica anestésica e sim detectar a resultante deste conjunto de fármacos e sua ação na resposta imune.

A técnica de anestesia combinada (anestesia geral com baixa concentração de fármacos venosos e/ou inalatório, associada com bloqueio peridural), revelou pequena incidência de infecções em pacientes graves, ASA VI (Yeager et al., 1987), assim como nos portadores de feocromocitoma (que são propensos a infecções devido ao aumento do valor da glicemia), demonstrou esta técnica menor incidência de infecção pós-anestésica. (Vaz, 1997)

### CAPÍTULO 3 - JUSTIFICATIVA

Daqui a dois anos, na entrada do século XXI, o Brasil será a oitava população de idosos no mundo. Apesar disso, o nosso país, ainda não é pródigo no conhecimento sobre as características desta população e das demandas de saúde decorrentes do seu perfil epidemiológico. Este trabalho se propôs a preencher parte desta lacuna, no que concerne, em estudar a influência de três técnicas anestésicas na resposta imunológica do idoso, frente ao aumento de Radicais Livres que ocorre fisiologicamente nesta faixa etária.

Para isto, utilizou-se dois estudos: um experimental, em *anima villie* e outro de intervenção em *anima nobilis*, ambos idosos.

Os princípios que orientaram o desenvolvimento deste estudo, basearam-se no fato de que saúde é mais do que a ausência de doenças e que ambas, além dos fatores biológicos, têm determinantes psicológicos e sociais.

Considerando-se que saúde e doença não são fenômenos abstratos, antes, constituem processos dinâmicos que se cristalizam no indivíduo, em um permanente estado de equilíbrio/desequilíbrio, no qual um ou outro predominará, dependendo de conjunturas mais ou menos favoráveis ao seu estabelecimento.

O ato anestésico pode romper este equilíbrio, no que tange à resposta imunológica e ao estresse oxidativo. (Delogu, 1989), (Seitz, 1991), (Signorini, 1993), (Murier, 1996), (Santana, 1997)

Com relação às patologias que interferem na imunidade como: diabetes mellitus, desnutrição e obesidade, foram excluídas do grupos estudados.

Sendo a desnutrição uma questão social, econômica e cultural que encontra-se crescente e, muitas vezes, revela-se de forma insuspeita em pacientes de elevada renda *per capita*, como canadenses e americanos idosos, que apresentam graus variáveis de desnutrição protéico-calóricos ou deficiência de nutrientes específicos (Buzby et al., 1980), (Chandra, 1983), sendo que esta variável foi controlada no estudo experimental, assim como exposição a riscos de radiação e agentes infecciosos, que poderiam alterar os resultados da pesquisa, tanto para a resposta imune como para a avaliação

dos Radicais Livres. (Mac Lennan, 1994) (Velasco et al., 1996)

O estudo experimental foi composto por ratos Wistar, animais que têm sido usados em estudos de avaliação imunológica e de produção de Radicais Livres, com resultados semelhantes em *anima nobilis*. (Thorman et al., 1982) (Bruce, 1986) (Philosoph et al., 1989) (Tait, 1990) (Marckonic, 1993)

Neste estudo, avaliou-se a influência das técnicas anestésicas gerais, com analgesia profunda ou só com hipnose, na produção de Radicais Livres de oxigênio e na fagocitose, durante a anestesia.

Em idosos (60-69 anos), foi realizado um estudo de intervenção com três técnicas anestésicas, amplamente utilizadas nesta faixa etária. (Go, 1996)

Vários autores referem que o ato anestésico pode alterar o Sistema Imunológico: (Kay, 1976), (Delongue, 1989), (Ventakensen, 1990), (Seitz, 1991), (Santana, 1993), (Signorini, 1993), (Weigle, 1993), (Mac Lennan, 1994) (Muriel, 1996) ( Lacerda, 1996)

O objetivo é verificar que alterações imediatas a estas três técnicas propostas influenciam na imunossenescência .

As alterações imediatas são especialmente importantes, pois é um período no qual há fatores psíquicos, físicos, estruturais, e meio ambiente que favorece a ocorrência de infecções. (Santos , 1997)

A cirurgia escolhida para o estudo foi a Herniorrafia Inguinal Unilateral, sem colocação de prótese na parede abdominal .

A escolha recaiu nesta patologia cirúrgica, por ser muito prevalente em idosos (vide anexo 1), (Ponka, et al., 1974), sendo que esta cirurgia pode ser realizada sob técnica local, regional ou geral, dependendo de critérios psicobiológicos do paciente, além da complexidade anatômica presente (Young, 1987).

A Herniorrafia é considerada cirurgia de baixa potencialidade de infecção (cirurgia limpa), tanto que o índice de infecção para a mesma ocorrer é de 5%, Cruse et al. (1940), Sandusky (1980) e muito freqüente em idosos (anexo 1).

Mead et al. 1986, demonstraram índice de infecção de feridas limpas diferentes em duas faixas etárias; nos homens com menos de 50 anos é de

2,7% e com mais de 50 sobre para 4,7%.

Obviamente, a idade é uma característica imutável dos pacientes e, mesmo sendo um fator de risco para infecção das feridas, parece ter um valor no máximo moderado.

Daí a escolha das três técnicas anestésicas, num procedimento cirúrgico semelhante, em pacientes com condições nutricionais e clínicas satisfatórias para o procedimento proposto, obtendo graus I ou II pela classificação da *American Society of Anesthesiologists* (A.S.A, 1963) que tem como critérios a presença ou não de doenças incapacitantes, além da patologia cirúrgica e expectativa de vida nas próximas 24 horas .

## Quadro nº 2 - Classificação de Estado Físico

Classificação de Estado Físico pela Sociedade Americana de Anestesiologia (A.S.A)		
Classe I -	ASA	indivíduo saudável
Classe II -	ASA	paciente com doença sistêmica discreta
Classe III -	ASA	paciente com doença sistêmica grave com limitação da atividade, mas não incapacitante
Classe IV-	ASA	paciente com doença sistêmica incapacitante que represente risco de vida
Classe V -	ASA	paciente moribundo, sem esperança de sobrevivência por mais de 24 horas
E -		acrescenta-se a letra E na frente da classe, quando for caso de emergência

A escolha das variáveis, tanto para avaliação da resposta imunológica como para o estresse oxidativo, deu-se a partir de revisão da literatura.



## **População**

Foi utilizada a população de ratos Wistar idosos do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade Severino Sombra, Vassouras, Estado do Rio de Janeiro.

Os pacientes idosos são oriundos da Universidade do Rio de Janeiro, Escola de Medicina e Cirurgia, Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, das Clínicas Cirúrgicas A e B.

Os exames laboratoriais foram todos realizados no Laboratório Hélio Póvoa, sito no bairro de Botafogo, cidade do Rio de Janeiro.

## **CAPÍTULO 4 - OBJETIVOS GERAIS**

- conhecer a influência de três técnicas anestésicas na resposta imunológica do idoso;
- conhecer a produção de Radical Livre de oxigênio após o ato anestésico;
- correlacionar se o aumento de Radicais Livres é um fator preditor de alteração imunológica.

### **4.1 - Objetivos Específicos na Pesquisa Experimental em *Anima Ville***

- avaliar a produção de Radicais Livres na vigência de anestesia geral com analgesia e só com hipnose;
- avaliar a fagocitose na vigência de anestesia geral com a analgesia e só com hipnose.

### **4.2 - Objetivos Específicos na Pesquisa de Intervenção em *Anima Nobilis***

- contribuir para a discussão de técnicas anestésicas aplicada no idoso;
- caracterizar se o aumento de Radicais Livres é fator preditor de risco de alterações imunológicas;
- contribuir para a caracterização clínico - laboratorial da intervenção anestésica que menos altere a função imunológica do idoso;
- contribuir para caracterização laboratorial da intervenção anestésica que menos apresente estresse oxidativo;
- desenvolver recomendações para os Serviços de Anestesiologia, da necessidade de avaliar no pré e pós-anestésicos alterações imunológicas;
- trazer elementos para orientar um planejamento adequado aos serviços de anestesiologia em atenção à saúde do idoso.

## **CAPÍTULO 5 - METODOLOGIA**

A tese é constituída de dois estudos: um experimental e outro de intervenção.

A pesquisa experimental em *anima ville*, ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) idosos (24 meses), foi necessária para controlar variáveis como: teor alimentar no aspecto quantitativo e qualitativo, não exposição a radiações e agentes infecciosos.

Como estes animais apresentam estresse oxidativo e alterações imunológicas quando tornam-se idosos, assemelhado ao do homem, é um animal adequado à pesquisa proposta.

Na pesquisa realizada com estudo de intervenção, os idosos que constituíram a população deste estudo, eram homens e mulheres, portadores de Hérnia Inguinal (unilateral), que já constavam da programação das Clínicas Cirúrgicas do Hospital Gaffrée e Guinle para correção desta patologia .

Os instrumentos de medida, dentre eles os exames laboratoriais, para detectar a influência de três técnicas anestésicas na resposta imunológica e na produção de radicais livres, são considerados bons testes, por terem alta sensibilidade e especificidade, condições necessárias para medidas confiáveis e reproduzíveis. (Fletcher et al.,1996)

### **5.1 - População do Estudo Experimental**

A população de ratos Wistar (n=45) que constituíram o estudo experimental foi selecionada ao acaso, de uma população de 60 animais de ambos os sexos, sendo 38 machos e 22 fêmeas, tendo os animais atingido 24 meses de idade (idosos) (Burek et al, 1980). Após aprovação do projeto de pesquisa pela Instituição (anexo 2).

Os animais foram acondicionados em gaiolas contendo 4 animais do mesmo sexo, após o desmame (21 dias de vida) (CPNEMB, 1994).

As gaiolas mediam 50x40x25 cm, de material plástico (polipropileno).

Com fundo vazado, para evitar coprofagia e com tampa gradeada de aço inoxidável.

As condições ambientais foram compostas de fluxo de ar contínuo, ciclo de luz - escuridão de 12 horas, com temperatura variando entre 21 e 24° C.

A alimentação após o desmame foi de ração balanceada industrializada, em forma de cubos, (os componentes nutricionais estão listados na tabela).

**Tabela nº 1 - Composição da Dieta Balanceada**

<b>INGREDIENTES</b>	<b>100/gramas (g)</b>
Caseína	12,50
Amido	72,30
Óleo	10,00
Mistura Salina	4,00
Vitamina A	4.000.000 UI
Vitamina D <sub>3</sub>	1.000.000 UI
Vitamina B <sub>2</sub>	8
Vitamina E	25
Colina	0,20

Energia (Kcal/100g) 0,42cal Fonte: Purina®

O consumo de ração diária foi ofertada em 20 g per capita e água *ad libitum*.

Aos 24 meses de vida os animais foram divididos ao acaso, em três grupos amostrais, compostos de 15 elementos cada e denominados: “A” analgésico; “C” controle e “H” hipnótico.

## 5.2 - População do Estudo de Intervenção

Após aprovação pela Comissão de Ética Médica do Hospital, sede da pesquisa (anexo nº3) e consentimento por escrito dos participantes (anexo nº 7).

Foram alocados 90 (noventa) idosos de ambos os sexos, sendo 41

femininos e 49 masculinos, com idade média feminina de 63 anos e 6 meses e a masculina 65 anos.

Formaram-se três grupos: “G” Geral, “P” Peridural e “TC” Técnica Combinada.

A intervenção cirúrgica foi Herniorrafia Inguinal, por ser considerada uma cirurgia limpa. Segundo a definição, as cirurgias limpas são aquelas realizadas em tecidos estéreis ou de fácil descontaminação, na ausência de reação inflamatória aguda ou de falhas na técnica cirúrgica asséptica (Zanon, 1978).

O estado físico dos componentes desta pesquisa foram auferidos segundo a classificação da A.S.A. (*American Society of Anesthesiologists*) nos graus I e II.

Não havia, por critério previstos clínicos e/ou laboratoriais, indício de desnutrição.

Os critérios de inclusão: faixa etária de 60-69 anos; não ser recidiva à patologia cirúrgica; concordância por escrito, antes da intervenção, em participar da pesquisa.

Crítérios de exclusão: uso de imunossupressor; imunoestimulador; anti-inflamatório; antibióticos; complexos vitamínicos ou reposição de ferro; não ter sido transfundido com hemoderivados nos últimos seis meses; imobilidade; demência; diabete mellitus e desnutrição protéico-calórica.

### **5.3 - Instrumentos de Medidas do Estudo Experimental**

Os seguintes instrumentos foram utilizados: a) questionário e b) exames laboratoriais (anexo nº 4).

O questionário constou do preenchimento de dados dos animais como: sexo; peso e idade, assim como o método anestésico empregado; dose do(s) medicamentos(s); tempo de latência anestésica e exames realizados.

A colheita de sangue arterial para realização dos exames: explosão respiratória e lipoperóxidos nas hemácias foram realizados pela autora da pesquisa.

Os animais foram divididos em três grupos, compostos de 15 elementos cada.

No grupo denominado C (controle), não recebeu qualquer medicação.

No grupo denominado H (hipnótico), foi administrado, por via intraperitoneal, com agulha 13x4,5 (fina), Propofol 20,8 mg, correspondendo a 2,08 ml do produto, dose eficaz para promover hipnose (Glen, 1980).

No grupo A (analgésico) foi injetado, pela mesma via, Propofol 20,8 mg e o analgésico Fentanil 25 mcg, que corresponde a 0,5 ml do produto (Thayer, 1972).

Após o período de latência de 6 min ( $\pm 1$ ), para os grupos "A" e "H", foi observada a perda postural de quadrúpede, relaxamento muscular e não reação ao estímulo sonoro (clik de campainha).

Verificados os batimentos cardíacos do animal por inspeção e ausculta, e confirmado que o mesmo respirava espontaneamente, mesmo sob a ação dos fármacos. Foi então realizada a assepsia da pele na região torácica anterior, com álcool-iodado, punção cardíaca com agulha 30 x 7, retirado 0,25 ml de sangue arterial, para a mensuração dos lipoperóxidos nas hemácias e explosão respiratória no período transanestésico, sem nenhum trauma cirúrgico.

O mesmo procedimento foi realizado no grupo C, sendo a contenção dos animais realizada segundo a orientação do manual técnico em animais de laboratório. (CPNEMB,1994)

## **5.4 - Métodos dos Exames Laboratoriais no Estudo Experimental**

### **5.4.1 – Dosagem de Lipoperóxidos nas hemácias**

A metodologia usada para a dosagem dos lipoperóxidos nas hemácias foi a de Satoh (1978), adaptada por Póvoa (1990), seguindo a reação colorimétrica do dialdeído malônico (MDA), que é um produto final da ação lipoperoxidativa dos Radicais Livres. Desse modo, ocorre precipitação das proteínas pelo ácido tricloroacético, dosando-se a seguir o MDA ligado às mesmas.

## Descrição da Técnica

- a) 50 µl de sangue total colhido em seringa heparinizada;
- b) 1 ml de ácido tricloroacético a 5% (gota a gota);
- c) agitar, centrifugar por 10 minutos (3000 rpm) e decantar;
- d) acrescentar ao precipitado 1 ml de ácido sulfúrico a 3 M e 1 ml do reagente<sup>1</sup> de cor e agitar;
- e) deixar 15 minutos em banho-maria fervente;
- f) esfriar à temperatura ambiente;
- g) acrescentar 3,5 ml de álcool n-butílico, agitar;
- h) centrifugar por 5 minutos a 3000 rpm;
- i) pipetar o sobrenadante e ler em 530 nm contra o branco. O branco é preparado com água destilada.

Cálculos:

$$30 \times \frac{\text{Leitura do Teste}}{\text{Leitura do Padrão}} = \text{nm/ml}$$

### 5.4.2 - Determinação da explosão respiratória por quimioluminescência

Técnica de Cohen modificada por Póvoa em 1995.

Fundamentos: os Radicais Livres de oxigênio combinam-se com o luminol, emitindo fótons, cuja contagem é feita pelo quimioluminômetro, aparelho sensível a esta emissão. Quanto maior a quantidade de luz emitida, maior a concentração de Radicais Livres na amostra.

---

<sup>1</sup> Reagente de cor composição: 0,5g% ácido tiobarbitúrico, 0,35g% de bicarbonato de sódio em 1,5M de sulfato de sódio.

## Reagentes, Material e Método

- 1) Solução Amplificadora (Luminol: 5 – Amino – 2,3 – dihydro – 1,4 – phthalazinedione) (Sigma, nº A 8511).
- 2) Solução Ativadora de Fagocitose (P.M.A. - phorbol 12–Myristate 13–Acetate (Sigma, nº P8139).
- 3) Solução Diluente da Amostra: PBS – Tampão Fostato - pH 7,4

## Descrição da Técnica

Utilizar 2 tubos:

1º Tubo “controle”: 2,2 ml de tampão PBS + 200 µl de luminol + 5 µl de sangue total.

2º Tubo “teste”: 2,0 ml de tampão PBS + 200 µl de PMA (uso) + 200 µl de luminol (uso) + 5 µl de sangue total.

Incubar a 37°C por 10 minutos.

Fazer leitura em quimioluminômetro nos tempos 0' – 2' – 4' – 6' – 8' – 10' – 12'.

## Cálculos:

Estabelecer uma relação  $\frac{\text{Tubo Teste (T}_T\text{)}}{\text{Tubo Controle (T}_C\text{)}}$

Realizar somatório da relação  $T_T/T_C$  e dividir pelo nº de contagens.

O resultado é expresso em IE (Índice de Estimulação) sendo os valores determinados pela primeira vez, neste trabalho, em ratos Wistar idosos do grupo controle.

## 5.5 - Instrumentos de medidas do Estudo de Intervenção

Considerando, para efeito de coleta de medidas, os seguintes instrumentos: a) questionário (anexo nº 5) e b) exames laboratoriais (anexo nº6).



O questionário constou de uma série de perguntas, cujo objetivo é delinear o perfil do entrevistado quanto a um conjunto de características, tais como: idade, peso, nível de escolaridade, situação conjugal, local de residência, história de doenças pregressas, doenças atuais e tratamento instituído para as mesmas e incidência de infecções nos últimos 6 meses.

As informações foram diretas, obtidas através da resposta verbal fornecida pelo entrevistado frente ao questionamento do entrevistador, exceção feita às questões sobre sexo e cor da pele, que foram anotadas após observação.

A coleta de sangue venoso para a medida dos leucócitos totais, linfócitos B, linfócitos T, CD<sub>4</sub>, CD<sub>8</sub>, interleucina<sub>1</sub> beta, interleucina<sub>2</sub>, explosão respiratória e radicais livres por quimioluminescência, lipoperóxidos nas hemácias e cortisol plasmático, foi realizada pela autora entre 6:30h e 7:30h do dia da intervenção anestésica e 6:30h e 7:30h do dia seguinte à intervenção.

O questionário pós-intervenção constou de perguntas semi-estruturadas sobre a incidência de processo infeccioso viral ou bacteriano, no período após a intervenção, até os primeiros 14 dias. (anexo5). Os resultados foram enviados por carta aos pacientes. (anexo 9)

Na pesquisa de intervenção (*anima nobilis*), os procedimentos anestésicos tiveram como denominação a técnica empregada.

No grupo denominado P, (peridural) uma técnica amplamente empregada, coube a Corning, em 1885, a realização da primeira anestesia peridural, no entanto, sua prática e melhor desenvolvimento coube a Sicard e Cathelin na França em 1901. (Bromage, 1978)

O princípio desta técnica é impedir que o impulso doloroso originado numa área de injúria não atinja o tálamo e para tanto usa-se uma substância que impede a propagação de estímulo, que é o anestésico local.

O anestésico local apresenta duas teorias explicativas para sua ação farmacológica :

- ele promove uma desorganização na membrana celular que resulta numa alteração do diâmetro do canal de sódio, impossibilitando o livre trânsito do mesmo. (Seeman, 1975)

- anestésico local tem efeito direto no canal de sódio impedindo a condutância. (Lee, 1976)

O anestésico local é injetado no espaço peridural. O espaço peridural encontra-se limitado externamente pelo periósteo do canal vertebral, pelo ligamento longitudinal posterior e pelo ligamento amarelo, e, internamente, pela dura-máter, estendendo-se do forame magno, onde a dura-máter adere à circunferência óssea, até à extremidade inferior do canal vertebral, no forame sacro.

Comunica-se com o espaço paravertebral pelos orifícios de conjugação, de onde emergem os nervos raquianos, e é preenchido por tecido adiposo frouxo (situado mais lateralmente) que drena para a veia ázigo superior (Covino et al, 1985).

O anestésico depositado no espaço peridural, sem uso de cateter, pode ser abordado em qualquer nível da coluna vertebral, sendo que, neste estudo, foi utilizada a região lombar entre as vertebrais lombares L<sub>2</sub>-L<sub>3</sub> ou L<sub>3</sub>-L<sub>4</sub>, conforme melhor adequação anatômica.

O anestésico local empregado foi a bupivacaína a 0,5% sem vasoconstrictor com massa anestésica variando 100 a 125 mg.

A bupivacaína é um anestésico local classificado como amino-amida (há uma ligação amida entre os grupos aromáticos e amina). Tem metabolização hepática, produz efeito anestésico com duração longa de 3 a 4 horas .

Promove um bloqueio seletivo, ou seja, mais intenso sensitivo que motor. (Covino, 1986)

As vantagens do uso da anestesia peridural sobre a técnica geral são:

- evita a manipulação da via aérea;
- resposta ao estresse cirúrgico diminuído;
- menos trombogênese e subseqüente embolia pulmonar;
- melhora a motilidade intestinal ;
- o paciente fica lúcido ou sedado durante os procedimentos;
- menor incidência de náuseas no pós-anestésico;
- menor disfunção pulmonar no pós anestésico; (Duke et al, 1997).

As desvantagens da técnica peridural são:

- lentidão para execução da técnica;
- grande incidência de falhas do bloqueio;
- não indicada na recusa do paciente ao método, coagulopatias, instabilidade hemodinâmica, neuropatias centrais e periféricas, anormalidades ortopédicas da coluna vertebral. (Duke et al., 1997)

No grupo denominado “G” (Geral), foi empregada uma técnica amplamente usada desde o século passado, introduzida por William Morton, em 1846, Connecticut, EUA (Collins, 1993), e que caracteriza-se por uma depressão irregular e reversível do sistema nervoso central, mas que, em algumas ocasiões, pode ser caracterizada por estimulação.

As vias para obtenção da anestesia geral são: inalatória, endovenosa ou associadas.

O estado anestésico é obtido quando se consegue alcançar, no cérebro, a concentração adequada de droga(s) anestésica(s).

Neste grupo, o procedimento anestésico geral foi obtido através da conjugação de fármacos venosos e inalatórios.

Para proceder à indução anestésica (perda da consciência), foi utilizada a via endovenosa, com o fármaco propofol; o relaxamento muscular foi obtido com besilato de atracúrio; a analgesia obtida com fentanil em doses menores ou iguais a 5 mcg por quilo corpóreo durante a intervenção, e a manutenção do estado de inconsciência com o agente inalatório isoflurano e oxigênio. A ventilação durante a anestesia foi artificial, podendo ser manual ou mecânica, com respirador volumétrico. Narcomist, fabricado pela Narcosul do Brasil.

As principais características químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas, dos fármacos utilizados são expostas de forma resumida:

O propofol ou 2,6 diisopropilfenol, um derivado alquifenólico, é um anestésico venoso não-barbitúrico, com propriedades hipnóticas e sedativas.

Sua fórmula contém: óleo de soja (10%); glicerol (2,25%) e fosfatídeo de ovo purificado (1,2%) tornando-se insolúvel em solução aquosa e apresentando-se como uma solução ligeiramente viscosa e leitosa com pH7.

Por não apresentar conservantes, permite o rápido crescimento bacteriano e seu manuseio, portanto, exige técnica asséptica, para evitar contaminação e, após ser utilizado, deve ser desprezado. (Omogui, 1995) (Hemelryck et al, 1996)

As indicações do propofol são para a indução e manutenção de anestesia, sendo também utilizada para sedação de pacientes em anestesia regional (técnica combinada) ou internados em terapia intensiva.

Possui propriedades anti-eméticas, broncodilatadoras, antipruriginosas, antioxidantes e anticonvulsivantes (Bryson, 1995) (Valim et al, 1998)

O mecanismo de ação no sistema nervoso central permanece em estudo, porém há evidências de que tenha sua atividade mediada através de potencialização da função do ácido gama aminobutírico sobre a ativação dos canais de cloro, assim como modula os receptores inibitórios gabaérgicos, glicinérgicos e glutaérgicos. (Basinath et al.,1995)

No modelo bicompartimental, estudos farmacocinéticos demonstram uma meia vida de distribuição com duração entre 2 e 8 minutos, que é responsável pelo término do efeito hipnótico e uma meia vida de eliminação de 1 a 3 horas.

A metabolização ocorre no fígado em metabólitos inativos e hidrossolúveis, os quais são eliminados pelos rins, sendo sua depuração alta ( $1,5$  a  $2,2$  L  $\text{min}^{-1}$ ), excedendo ao fluxo hepático. Há hipóteses de um metabolismo extra-hepático (pulmonar). Tal mecanismo torna-se evidente nos transplantes hepáticos ou renais, onde não ocorre nenhuma alteração na farmacocinética da droga. (Hemelryck, et al.,1997)

Doses de indução ( $1,5$  a  $2,5$  mg  $\text{kg}^{-1}$ ) produzem rápida inconsciência. A manutenção de perfusão venosa de  $100$  a  $200$  mcg  $\text{kg}^{-1}$   $\text{min}^{-1}$  para a anestesia geral e  $25$  a  $75$  mg  $\text{kg}^{-1}$   $\text{min}^{-1}$  para sedação. Em doses 50% abaixo destes, o paciente desperta.

Dentre os fármacos usados durante uma anestesia geral encontra-se um grupo de medicamentos que impedem a propagação de estímulos na junção neuromuscular, denominados bloqueadores neuromusculares.

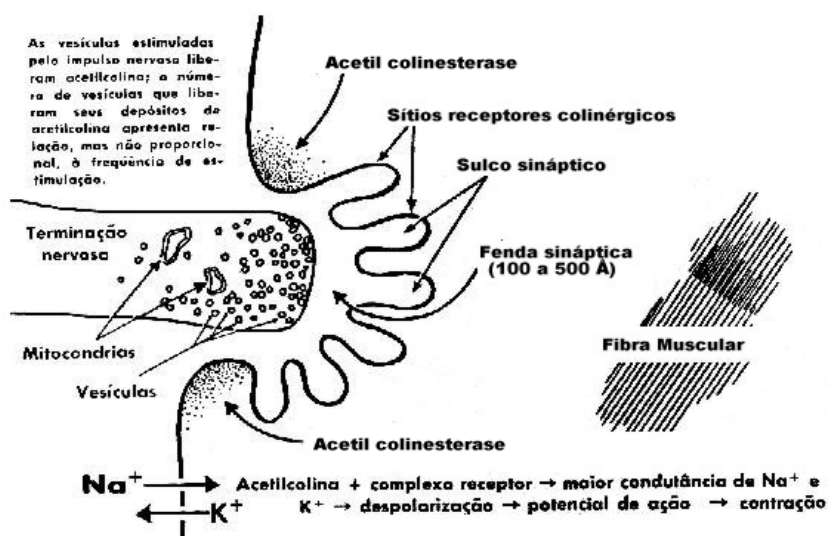
Sua inserção durante o ato anestésico cirúrgico, justifica-se pela

necessidade de relaxamento da musculatura esquelética, tanto para a entubação traqueal, como para instalar a ventilação mecânica, otimizando as condições cirúrgicas. Ocasionalmente, podem ser usados no estado epiléptico (apesar de não ser anticonvulsivante), no estado de mal asmático e tetânico, e para facilitar o tratamento da hipertensão intracraniana. (Hunter, 1995)

Os bloqueadores neuromusculares impedem o impulso aferente da terminação nervosa motora pré-juncional, de liberar acetilcolina .

A não liberação de acetilcolina impede que haja ligação com os receptores nicotínicos localizados na membrana pós-sináptica; com isso, os bloqueadores irão ocupar os receptores de nicotínicos por um mecanismo competitivo com a acetilcolina resultando em falta de potencial transmembrana, não ocorrendo propagação do potencial de ação ao longo da fibra muscular, promovendo o relaxamento.

**Figura nº 5 - Junção mioneural**



O besilato de atracúrio é um bloqueador neuromuscular competitivo, de tempo de ação intermediária.

Tem como característica a degradação, através da reação de Hofmann (degradação química espontânea que ocorre em pH e temperatura fisiológica), ou por hidrólise esterásica (degradação enzimática por esterases plasmáticas inespecíficas).

Devido ao metabolismo plasmático, seu tempo de ação na insuficiência renal e hepática é normal.

Reações adversas podem ocorrer por liberação histamínica, porém são raras (Vaz, 1991).

As doses empregadas foram de 0,3 a 0,5 mg/Kg corpóreo, por via venosa.

O Fentanil é um opióide, sintético derivado da fenilpiridina, que se liga especificamente com qualquer uma das subpopulações de receptores opióides, e através dessa ligação obtém efeito agonista.

Sua propriedade analgésica decorre da ligação do fentanil com os receptores  $\mu_1$  ao nível de supra-medular, principalmente mesencéfalo e vários núcleos medulares (Brooks et al, 1995).

O fentanil, quando usado por via endovenosa, tem sua eliminação plasmática em 1 hora, uma meia vida de distribuição rápida ( $\tau_{1/2 \pi}$ ) de 1 - 2 minuto e meia vida de eliminação ( $\tau_{1/2 \beta}$ ) de 3h.

Este opióide que possui potência 100 vezes maior que a morfina, (Mather, 1983) e encontra-se em uso mundial há 30 anos; tem ações típicas dos opióides, com a relevância de ter meia-vida plasmática menor que a morfina, além de não liberar histamina (Mather, 1983). Nas doses empregadas nesta pesquisa (5 mcg/Kg), tem pequena significância clínica no sistema cardiovascular.

No sistema respiratório, tem significativa ação depressora respiratória.

No sistema nervoso central, produz ação depressora geral (Mather, 1983).

As doses foram empregadas no decorrer do ato anestésico e não totalizaram ao final, valor superior a 5 mcg/Kg, portanto foram utilizadas doses pequenas de opióide para suplementar a analgesia, e hipnose promovida pelo agente inalatório empregado (isoflurano).

O isoflurano é um éter fluoretado, não inflamável, usado por via inalatória .

Possui um coeficiente de partilhar sangue/gás 1,4, sendo que esta baixa solubilidade sangüínea permite uma rápida concentração alveolar do isoflurano, resultando numa indução anestésica rápida, assim como a recuperação anestésica, com concentração alveolar mínima de 1,17. Devido ao seu odor pungente, pode provocar tosse ou apnéia, dificultando a indução. Por esta razão, opta-se pela indução venosa e o usa como agente de manutenção anestésica. (Eger, 1988)

A estabilidade físico-química do isoflurano reflete-se na sua grande resistência à biodegradação; apenas 0,17% do isoflurano inalado é metabolizado. (Hitt et al., 1974)

A resistência à biodegradação e o baixo potencial para toxicidade constituem, sem dúvida, vantagens do isoflurano na prática anestesiológica, além de apresentar um reduzido efeito inotrópico negativo e não promover arritmias cardíacas, o que confere a este agente inalatório uma indicação ampla em pacientes idosos.

Sua contra-indicação relativa é nos portadores de angina instável, devido à depressão do barorreflexo (Seagard et al., 1983), promovendo taquicardia sinusal.

A redução do cortisol plasmático e de catecolaminas é encontrada em doses superiores 2,5% (Flezzani et al., 1986), sendo que as doses usadas nesta pesquisa não ultrapassaram a 2%.

### Técnica Combinada

A técnica combinada é resultante da associação de anestesia peridural lombar com anestésico local, suplementada com anestesia geral (venosa e/ou inalatória).

A técnica combinada promoveu um grande impacto devido seus resultados benéficos em pacientes graves ASA III e IV (vide quadro 2 p. 67) (Yeager et al., 1987)

Esta técnica resultou num significativo decréscimo de complicações, quando comparada só com anestesia geral. A morbidade com anestesia geral é de 25%, com técnica combinada é 18%; a redução de infecção pós-operatória com geral é 52%; com técnica combinada 7%. Este relato provocou uma reavaliação dos efeitos que uma mudança de técnica anestésica pode trazer aos resultados clínicos-cirúrgicos dos pacientes, Reich (1997) e seu impacto em Saúde Pública.

No entanto, este estudo é limitado pela grande heterogeneidade de paciente, o tipo de intervenção cirúrgica, tempo de duração e necessidades de tratamento intensivo ou semi-intensivo no pós-anestésico, acarretando um viés de seleção dos procedimentos cirúrgicos .

Foi um marco, porém, no sentido de pensarmos sobre os seguimentos dos pacientes no pós-anestésico imediato e tardio.

Vaz, em 1991, empregou esta técnica anestésica para cirurgia de retirada de Feocromocitoma (tumor de células cromafins, secretoras de catecolaminas). A liberação de catecolaminas acarreta graves intercorrências clínicas, dentre elas, a maior tendência às infecções.

Na série estudada, não houve relato de infecção pós-operatória como causa de complicação.

Uma das justificativas para o melhor desempenho desta técnica anestésica seria: o mais efetivo controle da dor, impedindo o estresse adaptativo por eventuais baixas doses analgésicas e/ou hipnóticas. Nesta técnica há bloqueios neuroaxiais por dois diferentes mecanismos (medulares e supra-medulares) no controle da dor. (Reich, 1997)

No grupo denominado TC (técnica combinada), foi realizada a técnica peridural simples lombar entre L2-L3 ou L3-L4, com anestésico local bupivacaína a 0,5 % sem vasoconstrictor, massa 100 a 125mg, suplementada com anestesia geral com propofol, dose 1 a 2mg por peso corpóreo, para a indução venosa anestésica; besilato de atracúrio para relaxamento muscular, dose 0,3 a 0,5 mg por kg corpóreo, e a manutenção da hipnose com agente inalatório isoflurano na concentração de 0,5 a 1%.



## 5.6 - Métodos dos Exames Laboratoriais no Estudo de Intervenção

### 5.6.1 – Dosagem de Lipoperóxidos nas hemácias

Preparo das amostras:

- 1) Lavar as hemácias 3 vezes em salina ( $\pm$  1,0 ml / 9,0 ml de salina), centrifugar por 3 minutos e ressuspender o precipitado no mesmo volume.
- 2) A partir do concentrado, diluir com 100  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O destilada (obtido desta forma o lisado).

Descrição da Técnica:

- 1) Depositar 250  $\mu$ l de sangue no tubo teste.
- 2) Pipetar 250  $\mu$ l de Padrão malonaldeído bis (dimetil acetal, diluição de 1/200.000 em água destilada).
- 3) Pipetar 250  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O dest. no branco.
- 4) No precipitado das hemácias acrescentar 1 ml de solução acidificadora (ácido sulfúrico 3M) e 1ml de reagente de cor, agitar no vórtex.
- 5) Deixar por 15 minutos em banho-maria fervente.
- 6) Esfriar em temperatura ambiente.
- 7) Acrescentar 3,5 ml da solução extratora (butanol) e agitar no vórtex.
- 8) Centrifugar durante 15 minutos.
- 9) Pipetar o sobrenadante.
- 10) Ler em 530 nm contra o branco.
- 11) Dosar a hemoglobina do lisado das hemácias.

Resultado:

Fórmula para cálculo para hemácias =  **$[30 \div (LP \times LD)] \div Hb \times 100$**

O cálculo do MDA no lisado se faz de modo igual ao do plasma:

$$\text{MDA lisado} = 30 \times \frac{\text{leitura do teste}}{\text{leitura do padrão}} \times 100$$

O resultado final é encontrado dividindo-se o resultado do MDA pela hemoglobina.

Os valores de referência são: 482 a 1089 nmol / g Hb.

### 5.6.2 – Determinação da explosão respiratória

#### Método: Quimioluminescência

##### Descrição da Técnica

Utilizar 2 tubos

- 1) 1º tubo “Controle”: 2,2ml de tampão PBS + 200 µl de luminol + 5 µl do sangue.
- 2) 2º tubo “teste”: 2,0 ml de tampão PBS + 200 µl de PMA (pipetar na hora da leitura) + 200 µl de luminol (uso) + 5 µl de sangue.
- 3) Incubar a 37° C no banho-Maria por 10 minutos.
- 4) Fazer a leitura nos tempos 0' - 5' - 10' -15' - 20' - 25' - 30'
- 5) Estabelecer a relação  $\frac{T_T}{T_C} =$  onde  $T_T$  tubo teste  
 $T_C$  tubo controle

Fazer um somatório dos tempos e calcular a média dos tempos referentes ao número de contagens.

Preparo das soluções:

PMA (estoque): 5mg em 2,5 ml de DMSO

PMA (uso): 10 µl da solução estoque + 1,0 ml PBS

Valores de referência: 1,6 a 4,8 IE (Índice de explosão)

### 5.6.3. Determinação de Radicais Livres por quimioluminescência

**Método: quimioluminescência (onde lê-se no texto quimioluminescência entenda-se Radicais Livres).**

Soluções usadas:

PBS:	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 12H <sub>2</sub> O	M/15	72 ml
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	M/15	28 ml
	NaCl	0,85%	
	q.s.p.		1000 ml

Obs.: o pH deve ser 7,4

ou PBS: Solução estoque NaCl pH 7,4 equivalente NaCl 10%, diluir 8,5ml PBS em 91,5ml H<sub>2</sub>O

Luminol

Solução estoque (concentrado): 10mg de luminol em pó (SIGMA) em 1ml de solução de DMSO (dimetilsulfóxido). Manter em geladeira.

Solução para uso: 5 microlitros de luminol (solução estoque) em 25 mililitros de PBS. Esta solução deve ser mantida em geladeira e renovada semanalmente.

Amostras: Sangue total heparinizado em amostras recém colhidas e mantidas sob refrigeração (feitas em duplicatas).

Descrição da Técnica:

Blank: 2,2 ml de PBS + 0,2 ml de luminol (solução para uso)

Testes: 2,2 ml de PBS + 0,2 ml de luminol (solução para uso) + 0,05 ml de sangue total heparinizado, agitar no vórtex.

Fazer contagens num luminômetro ("MAGIC LITE ANALYSER CIBA CORNING") nos tempos T<sub>0</sub>, T<sub>30</sub>, T<sub>60</sub>, T<sub>90</sub>, T<sub>120</sub>, T<sub>150</sub>, T<sub>180</sub> minutos.

Cálculos:

Soma total = somatório das contagens 30', 60', 90', 120', 150', 180', - (6xT0')

Exemplo de um cálculo:	0' - 65 (contagem no aparelho)
	30' - 83
	60' - 106
	90' - 148
	120' - 200
	150' - 203
	180' - 308

Somaremos:  $83 + 106 + 148 + 200 + 203 + 308 = 1048$

Multiplicamos o valor da contagem no tempo 0 pelo número de contagens:

$65 \times 6 = 389$

Resultado final:  $1048 - 389 = 659.000$ . Acrescentamos três zeros ao resultado final.

O resultado é dado em CONTAGENS POR MINUTO (c.p.m.) sendo os valores de referências inferiores a 400.000 c.p.m.

#### **5.6.4 - Mensuração de CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup>**

##### **Método: citometria de fluxo**

A dupla coloração para a citometria de fluxo é obtida pela combinação dos seguintes anticorpos fluorescentes:

Anti-CD4<sup>+</sup>: MT310 é um anticorpo monoclonal de camundongo, conjugado com isômero 1 de isotiocianato de fluoresceína.

Anti-CD8<sup>+</sup>: DK25 é um anticorpo monoclonal purificado de camundongo, conjugado com R-ficoeritrina (RPE).

Solvente: 0,05 M Tris/HCl, 0,1 M NaCl, 15mM NaN<sub>3</sub>, pH 7,2, albumina sérica bovina.

Isótipo: IgG1, cadeia leve kapa.

Quantidade por frasco: 50 testes (10  $\mu$ l para  $10^6$  células).

Armazenagem: em ambiente escuro, de 2 - 8° C.

Especificidades/reatividades dos clones MT310 e Dk25: Anti-CD4<sup>+</sup>, MT310, foi incluído no Terceiro Workshop Internacional sobre Antígenos de Diferenciação do Leucócito Humano (Boston 1984). Estudos conduzidos por diversos laboratórios confirmaram a reatividade com o antígeno CD4, NTI CD4, MT310, com os linfócitos auxiliares/indutores T e com monócitos. O anticorpo produzido pela DAKO®, bloqueia o local de combinação do vírus da imunodeficiência humana (HIV).

O Anti-CD8<sup>+</sup>, DK25, marca os linfócitos T supressores/citotóxicos no tecido linfóide humano periférico. No timo humano, o Anti-CD8<sup>+</sup>, DK25, marca a grande maioria dos timócitos corticais e aproximadamente 30% dos timócitos medulares. No baço humano, ele identifica os linfócitos T, encontrados no revestimento do sino, além dos linfócitos supressores/citotóxicos T. Da mesma forma que com outros anticorpos da mesma especificidade, o Anti-CD8<sup>+</sup>, DK25, também reage com as células de revestimento do sino no baço humano.

Aplicações: Reagente de Dupla Coloração DAKO, N.º de Código FR 868, foi desenvolvido especificamente para uso em citometria de fluxo. Ele permite a detecção e enumeração simultâneas de subpopulações de linfócitos T auxiliares/indutores e supressores/ citotóxicos, respectivamente, CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>.

Descrição da Técnica:

1. Colete o sangue venoso num tubo que contenha um anticoagulante.
2. Transfira 100  $\mu$ l do sangue anticoagulado para o tubo de teste.
3. Adicione 10  $\mu$ l de FR 868. Misture suavemente. O reagente poderá ser usado puro ou diluído na proporção de 1:10. Esta é apenas uma diretriz, pois a diluição ótima deverá ser determinada pelo próprio laboratório.
4. Use um anticorpo irrelevante conjugado com FITC e RPE, do mesmo isótipo como por exemplo o X 0932, como controle negativo.

5. Incube no escuro a 4 °C por 30 minutos.
6. Adicione 1-2 ml de reagente lisante para eritrócitos, de sua escolha, em cada tubo e misture suavemente. Siga as instruções do fabricante do reagente quanto ao tempo e temperatura de incubação.
7. Centrifugue a 300 x g durante 5 minutos.
8. Aspire os sobrenadantes, deixando aproximadamente 50 µl de fluido.
9. Acrescente 3 ml 0,01 M PBS + 2% de albumina sérica bovina. Gire suavemente.
10. Centrifugue a 300 x g durante 5 minutos, então aspire os sobrenadantes, deixando aproximadamente 50 µl de fluido.
11. Ressuspenda a pelota num fluido apropriado para a análise citométrica de fluxo, p.ex., 0,3 ml 1% de paraformaldeído (fixador) em PBS.
12. Proceda à análise num citômetro de fluxo.
13. Valores de referências: número de CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> /µl

### **5.6.5 – Determinação de Linfócitos T e Linfócitos B**

(CLB PeliDuo® artigo nºM1699)

Conjugação para linfócito T:

Usar fluoresceína isothiocianato isômero

1. (FITC); clone CLB T3/2, 16A9; isótopo de rato IgG2a

Conjugação para linfócito B:

Usar R-ficoeritrina (PE), clone CLB – B4/1, 11G1 isótopo de rato IgG1.

Materiais e Reagentes:

- dupla etiqueta conjugada de anticorpos monoclonais.
- solução de lise (NH<sub>4</sub> Cl, pH 7,2).
- tampão: PBS, contendo 0,2% BSA.
- PFA: Para-formaldeído 1%, pH 7,2, contendo 0,2 BSA.
- tubos.

Procedimento para aplicação da técnica de imunofluorescência.

- 1 – retire sangue em tubo contendo EDTA.
  - 2 – transfira 100  $\mu$ l de sangue para os tubos testes
  - 3 – adicione 10  $\mu$ l do anti-corpo nos tubos testes e misture gentilmente.
  - 4 – incube por 30 minutos a 2-8°C.
  - 5 – misture aos tubos 2ml da solução de lise.
  - 6 – incube por 3-5 minutos na temperatura da sala.
  - 7 – quando a lise estiver completa, centrifugue os tubos a 500 x g por 5 minutos
  - 8 – aspire o sobrenadante das células ressuspenda as células com 1 ml de tampão.  
Coloque os tubos em banho de gelo.
  - 9 – Analise os tubos após 8 horas.
- Caso a análise não seja possível em 8 horas, centrifugue os tubos a 500 x .g  
Aspire o sobrenadante das células e ressuspenda com 1 ml de PFA 1%.

#### **5.6.6 – Determinação de Cortisol plasmático**

##### **Método: Quimioluminescência**

A dosagem do Cortisol através do sistema ACS:180 Chiron Diagnostics é um imunoensaio competitivo que utiliza a tecnologia de luminescência química direta. O Cortisol da amostra do paciente compete com o cortisol conjugado com éster de acridina (Reagente Lite) pela combinação com o anticorpo policlonal de coelho anti-cortisol na fase sólida (partículas paramagnéticas). O anticorpo policlonal de coelho anti-cortisol está ligado ao anticorpo monoclonal de camundongo anti-coelho, que por sua vez está ligado covalentemente à fase sólida.

### Descrição da Técnica:

O sistema executa automaticamente as seguintes etapas:

deposita 20  $\mu$ l de amostra na cubeta

- deposita 50  $\mu$ l de Reagente Lite e 250  $\mu$ l da fase sólida e incuba durante 5,0 minutos a 37°C
- separa, aspira e lava as cubetas com água
- deposita, respectivamente, 300  $\mu$ l dos Reagente 1 e Reagente 2 para iniciar a reação de quimioluminescência
- fornece resultados de acordo com a opção selecionada

Existe uma relação inversa entre a quantidade de cortisol presente na amostra do paciente e a quantidade de unidades relativas de fótons (RLUs) detectada pelo sistema.

### Padronização

O teste do Cortisol ACS:180 é padronizado analiticamente e confirmado por cromatografia do gás e espectroscopia de massa.



Tabela nº 2 - Reagentes e volumes para medida do cortisol plasmático

Reagente	Volume	Ingredientes	Armazenagem	Estabilidade
Cortisol ACS:180 Reagente Lite	2,5 ml/frasco	cortisol marcado com éster de acridina (~ 4,2 ng/frasco) em solução salina tamponada com salicilato de sódio (~ 125 mg/frasco), azida de sódio (0,1%) e preservativos	2 - 8°C	até à data de validade no rótulo do frasco, ou 32 horas cumulativa temperatura ambiente
Cortisol ACS:180 Fase sólida	12,5 ml/frasco	anticorpo de coelho anti-cortisol (~14µg/frasco) combinado ao anticorpo monoclonal de camundongo anti-IgG de coelho, (~700 µg/frasco) ligado covalentemente as partículas paramagnéticas em solução salina tamponada com azida de sódio (<0,1%) e preservativos	2 - 8°C	até à data de validade no rótulo do frasco, ou 32 horas cumulativas à temperatura ambiente

## Calibragem da Curva Mestra

O teste do Cortisol pelo sistema ACS:180 exige uma calibragem da Curva Mestra ao serem utilizados novos lotes de Reagente Lite e de Fase Sólida. Para cada novo lote de Reagente Lite e de Fase Sólida use a flecha do código de barras no teclado para registrar os valores na Curva Mestra do sistema. O cartão da Curva Mestra contém os valores da Curva Mestra.

## Intervalo da Calibragem em Dois Pontos

O teste do Cortisol pelo sistema ACS:180 exige uma calibragem de dois pontos:

- a cada 7 dias
- ao mudar os números de lote dos reagentes de teste
- ao substituir os componentes do sistema
- quando os resultados do controle de qualidade estiverem repetidamente fora da variação

## Volume da Amostra

Este teste exige 20 µl de amostra para uma única determinação. Este volume não inclui o volume não utilizável no copo da amostra ou o volume adicional exigido na realização de duplicatas ou outros testes na mesma amostra.

Quando a tarefa automática da bandeja e do copo estavam em uso , utilizou-se a lista de trabalho impressa como guia para a colocação dos calibradores, material de controle de qualidade e amostras dos pacientes nas posições corretas da bandeja e do copo.

- Caso a tarefa automática da bandeja e do copo estivessem fora de operação e todas as amostras de controle de qualidade e dos pacientes estivessem codificadas com barras, colocou-se as amostras em qualquer posição.

### Descrição da Técnica:

1. Programou-se os testes ou perfis solicitados para cada amostra.
2. Preparou-se e colocou-se o Calibrador E, se solicitado.
  - a. Preparou-se os calibradores baixo e alto de acordo com as instruções contidas na bula de produto do Calibrador E.
  - b. Preparou os calibradores baixo e alto nos copos de amostras rotulados com as etiquetas apropriadas de códigos de barras
  - c. Colocou-se os copos com as amostras na bandeja de amostras. (Assegure-se de que o calibrador baixo preceda o calibrador alto na bandeja de amostras).
3. Preparou-se e colocou-se as amostras de controle de qualidade:
  - a. Preparou-se o material de controle de qualidade de acordo com as instruções da bula do produto de controle de qualidade.
  - b. Depositou-se as amostras de controle de qualidade no interior dos copos rotulados respectivamente.
  - c. Colocou-se os copos de amostras nas posições apropriadas na bandeja.
4. Preparou-se os tubos principais ou copos de amostras que foram colocados na mesma bandeja.
5. Caso fosse necessária a diluição da amostra de soro, depositou-se o Multi-diluyente 3 em um copo de amostras rotulado com a etiqueta de código de barras apropriada e colocou-se a referida amostra na mesma bandeja.
6. Colocou-se o Reagente Lite e a fase sólida nas posições adjacentes na bandeja do reagente.
7. Iniciou-se o sistema.

### Cálculos

#### Para o soro

- O sistema informa os resultados do cortisol no soro em  $\mu\text{g/dl}$  ou  $\text{nmol/l}$ , dependendo nas unidades definidas na preparação do teste. A fórmula de conversão é  $1 \mu\text{g/dl} = 27,59 \text{ nmol/l}$ .

### Diluições

- As amostras de soro com níveis de cortisol superiores a 75 µg/dl (2069 nmol/l) deverão ser diluídas e retestadas para a obtenção de resultados corretos. Utilizou-se o Multi-Diluyente 3 para diluir as amostras.
- As amostras de soro tanto podem ser automaticamente diluídas pelo sistema ou preparadas manualmente. Para diluições automáticas, assegure-se de que o Multi-Diluyente 3 esteja carregado e ajuste os parâmetros do sistema como segue:
  - Ponto de ajuste da diluição:  $\leq 75 \mu\text{g/dl}$  (2069 nmol/l);
  - Fator de diluição:
- Dilui-se manualmente as amostras de soro quando os resultados do paciente excederem a linearidade do teste, mediante utilização da diluição automática, ou quando o protocolo do laboratório exigir a diluição manual.
- Usou-se o Multi-Diluyente 3 para dissolver manualmente as amostras de soro, e então colocou-se a amostra diluída na bandeja de amostras, em substituição à amostra não diluída.
- Assegurou-se que os resultados estivessem matematicamente corretos .

Tabela nº 3 - Variação do cortisol em adultos aparentemente normais

<b>Categoria da Amostra</b>	<b>N</b>	<b>Variação do Cortisol (µg/dl)</b>	<b>Variação do Cortisol (nmol/l)</b>
Soro matinal (7-9 h)	125	4,30 - 22,40	118,6 - 618,0

### Sensibilidade e Variação do Teste

O teste do Cortisol ACS:180 mede as concentrações de cortisol no soro até 75 µg/dl (2069 nmol/l), com uma concentração mínima detectável de 0,20 µg/dl (5,5 nmol/l). A sensibilidade analítica é definida como a concentração de cortisol que corresponde às RLUs, que são desvios padrão menores que as RLUs médias de determinações replicadas do padrão zero de cortisol.

### 5.6.7 - Mensuração da interleucina<sub>1</sub> beta

O estojo de MEDGENIX IL-1 beta EASIA® (Biosource Europe S.A, Bélgica) utiliza o método imunoenzimométrico para mensuração de interleucina<sub>1</sub> beta humana no plasma, em sobrenadantes de cultura celular, assim como em outros fluidos biológicos.

Tabela nº 4 - Reagentes e quantidades para medidas de interleucina<sub>1</sub> beta

Reagentes	Quantidades	Código de Cores	Reconstituição
Placa de microtitulação com 96 receptáculos revestidos com IL-1beta	1x96 receptáculos	Azul	Pronto para uso
Padrões 0 a 5: plasma humano com preservativos	6 frascos liofilizados	Amarelo	Acrescentar 2 ml de água destilada
Anticorpo anti-IL 1beta conjugado com peroxidase (HRP) em solução tampão com proteína e preservativo	6ml	Vermelho	Pronto para uso
Plasma sérico diluído com preservativo	3 frascos	Preto	Adicionar 8ml de água destilada
Controles 1 e 2: plasma humano com preservativos	2 frascos liofilizados	Prata	Acrescentar 1 ml de água destilada
Concentrado de Solução de Lavagem (tampão com preservativos)	1 frasco de 10 ml	Marrom	Diluir 2ml em 400ml de água destilada
Concentrado Cromogênico: TMB (Tetrametilbenzidina) em DMF	1 frasco com 1 ml	Verde	Transferir 0,2 ml de TMB para 1 frasco do Tampão Substrato (preparação extemporânea)
Tampão Substrato: H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em tampão acetato/citrato	3 frascos frasco de 21 ml	Branco	Pronto para uso
Solução de Parada H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 1,8 N	1 frasco com 6 ml	Preto	Pronto para uso

Armazenagem e conservação das amostras, reagentes, controles e padrões seguiram as indicações do fabricante.

#### Descrição da Técnica:

1. Selecione o número necessário de tiras de placas de microtitulação para a operação.
2. Prenda as tiras de placas de microtitulação na estrutura de retenção.
3. Deposite, respectivamente, 200  $\mu$ l de amostra, soluções padrões e controles
4. Adicione 50  $\mu$ l de anticorpo anti-IL<sub>1</sub> beta conjugado com peroxidase (HRP) nos receptáculos apropriados.
5. Incube por 2 horas à temperatura ambiente
6. Aspire o líquido de cada receptáculo
7. Lave a placa três vezes
8. Adicione 200  $\mu$ l da Solução Cromogênica TMB, recém-preparada, em cada receptáculo. Incube a placa durante 15 minutos à temperatura ambiente num agitador horizontal ajustado a  $700 \pm 100$  rpm, evitando a luz solar direta.
9. Adicione 50  $\mu$ l da solução de bloqueio em cada receptáculo.
10. Faça a leitura das densidades ópticas nas absorvâncias de 450 nm e 490 nm (filtro de referência: 630 ou 650 nm) dentro de três horas e calcule os resultados

#### Cálculo dos Resultados Analíticos

##### A. Leitura da placa

Leia a placa de microtitulação a 450 nm (filtro de referência: 630 ou 650 nm). Construa uma curva padrão usando todos os pontos padrões para os quais as absorvâncias estejam abaixo do limite de linearidade do leitor usado.

Faça a plotagem das densidades ópticas (D.O.) nas ordenadas contra as

concentrações padrão nas abscissas usando o papel gráfico linear ou semi-logarítmico e trace a curva ligando os pontos plotados com linhas retas.

Determine as concentrações de  $IL_{1\beta}$  das amostras ou controles para as quais as D.O. não sejam maiores do que aquelas do último padrão plotado a 450 nm. Caso qualquer amostra ou controle tenha a D.O. maior do que a do último padrão lido a 450 nm é necessário uma segunda leitura a 490 nm (filtro de referência: 630 ou 650 nm). Proceda conforme descrito anteriormente para construir uma segunda curva padrão a 490 nm usando todos os pontos padrões. O segmento da curva traçada entre o último padrão lido a 450 nm e o padrão mais concentrado será considerado a 490 nm. A concentração das amostras e controles para os quais as D.O. se incluem neste segmento, é lida a 490 nm. Assim, a primeira leitura apresenta a alta sensibilidade do teste e a segunda leitura permite uma faixa padrão ampliada.

Nota: As leituras a 490 nm aplicam-se apenas aos valores fora da escala a 450 nm (acima do limite da linearidade) e não deverá substituir a leitura a 450 nm para os valores abaixo do limite de linearidade do leitor.

#### B. Exemplo de uma curva de referência típica

Os seguintes dados são apenas para efeito de demonstração e não podem ser usados no lugar dos dados gerados na ocasião do teste

Tabela nº 5 - Valores da IL<sub>1</sub> beta por EASIA em indivíduos adultos saudáveis

<b>IL<sub>1</sub> beta (EASIA)</b>		<b>Modelo Policromático (unidades D.O.)</b>
Padrão	0 pg/ml	0,016
	33 pg/ml	0,150
	100 pg/ml	0,389
	335 pg/ml	1,153
	670 pg/ml	2,063
	1400 pg/ml	3,309

#### Faixa Esperada (Intervalo de Referência)

Segundo o laboratório BIOSURCE apenas os resultados preliminares podem ser apresentados, pelo que foi recomendado que cada laboratório estabeleça seus próprios valores normais. Para orientação, a média de 40 plasmas normais foi 5 pg/ml (SD -8), variando entre 0 pg/ml e 15 pg/ml. Este estudo foi realizado com amostras coletadas em estrita condição de amostragem.

#### Características de Desempenho

##### Concentração Mínima Detectável (MDC)

A concentração MDC é estimada como sendo 2 pg/ml e é definida como a concentração de IL<sub>1</sub> beta, correspondente à média das densidades ópticas de 20 réplicas do padrão zero + 2 desvios padrões.



Tabela nº 6 - Precisão do intra-ensaio para IL<sub>1</sub> beta

INTRA-ENSAIO				INTRA-ENSAIO (dia-a-dia)			
Amostras	N	< x > ± SD (pg/ml)	CV %	Amostras	N	< x > ± SD (pg/ml)	CV %
Soro 1	20	127 ± 4	3,4	Soro 1	20	108±4,8	4,4
Soro 2	20	133±161 8	2,2	Soro2	20	941 ± 4	4,6

#### Especificidade

Não foi observada reação cruzada significativa na presença de 50 ng de IL<sub>1</sub>α, IL<sub>3</sub>, IL<sub>4</sub>, IL<sub>6</sub>, IL<sub>7</sub>, IL<sub>8</sub>, IL<sub>10</sub>, IL<sub>15</sub>, TNF-α, TNF-β, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, TGF-β, GM-CSF, OSM, MIP-1α, LIF, MCP-1, G-CSF. Este teste IL<sub>1</sub>beta é específico para IL<sub>1</sub>beta humano natural e recombinante.

Tabela nº 7 - Correlação da medida IL<sub>1</sub> beta

RECUPERAÇÃO				TESTE DE DILUIÇÃO			
Amostras	IL-1 beta Adição pg/ml	IL-1 beta recuperado pg/ml	Recupe- rado %	Amostras	Diluição	Concen- tração Teórica pg/ml	Medida da Conc. Pg/ml
Soro	1227	1260	103	Soro	1/1	12900	12900
	600	542	90		1/2	643	637.1
	312	314	101		1/4	322.5	320.2
	150	147	98		1/8	161.3	164.5
	65	64	99		1/16	80,6	86.1
Plasma	1227	1208	99	Cultura de célula	1/4	950.0	950.0
	600	5738	96		1/8	475.0	483.5
	312	321	103		1/16	237	242.7
	150	146	97		1/32	118.8	124.4
	65	67	103		1/64	59.4	63.8

### 5.6.8 - Mensuração de interleucina<sub>2</sub>

O estojo de MEDGENIX IL<sub>2</sub> beta EASIA® (Biosource Europe S.A, Bélgica) é usado para medir IL<sub>2</sub> no plasma, em sobrenadantes de cultura celular assim como em outros fluidos biológicos através de método imunoenzimométrico.

Tabela nº 8 - Reagentes e quantidades para medidas da interleucina<sub>2</sub>

Reagentes	Quantidades	Código de cores	Reconstituição
Placa de microtitulação com 96 receptáculos revestidos com IL-2	1x96 receptáculos	Azul	Pronto para uso
Padrões 0 a 5: plasma humano com preservativos (vide rótulo para concentrações exatas)	6 frascos liofilizados	Amarelo	Acrescentar 1 ml de água destilada
Solução A (plasma humano com preservativos) para cultura celular	2 frascos liofilizados	Preto	Acrescentar 8 ml de água destilada
Solução B (tampão com preservativos) para plasma	1 frasco com 10,5 ml	Preto	Pronto para uso
Anticorpo anti-IL-2 conjugado com peroxidase (HRP) em solução tamponada com proteína e preservativos	1 frasco com 6ml	Vermelho	Pronto para uso
Controles 1 e 2: plasma humano com preservativos	2 frascos liofilizados	Prata	Acrescentar 1 ml de água destilada
Concentrado de Solução de lavagem (tampão com preservativos)	1 frasco de 10 ml	Marrom	Diluir 2ml em 400ml de água destilada
Concentrado Cromogênico: TMB (Tetrametilbenzidina) em DMF	1 frasco com 1 ml	Verde	Transferir 0,2 ml de TMB para o frasco de Tampão Substrato
Tampão Substrato: H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em tampão acetato/citrato	3 frascos frasco de 21 ml	Branco	Pronto para uso
Solução de Parada H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 1,8 N	1 frasco com 6 ml	Preto	Pronto para uso

Armazenagem e conservação das amostras, padrões, controles e reagentes seguem as especificações do fabricante.

#### Descrição da Técnica:

1. Selecione o número necessário de tiras de placas de microtitulação para a operação.
2. Prenda as tiras na estrutura de retenção.
3. Adicione 100  $\mu$ l da Solução B para os receptáculos apropriados previstos para os padrões e controles.
4. Adicione 100  $\mu$ l da Solução B para os receptáculos apropriados para amostras de soro/plasma. Adicione 100  $\mu$ l, respectivamente, de padrão, controle ou amostra nos respectivos receptáculos. Acrescente 50  $\mu$ l de anticorpo anti-IL<sub>2</sub> conjugado com peroxidase (HRP) em todos os receptáculos.

Incube durante 2 horas à temperatura ambiente, num agitador horizontal, ajustado a 700 rpm  $\pm$  100 rpm.

5. Aspire o líquido de cada receptáculo.  
Lave a placa três vezes com 0,4 ml de solução de lavagem
6. Adicione 200  $\mu$ l de Solução Cromogênica TMB, recém-preparada, em cada receptáculo
7. Incube a placa durante 15 minutos à temperatura ambiente, num agitador horizontal ajustado a 700  $\pm$  100 rpm, evitando a luz solar direta.
8. Adicione 50  $\mu$ l da solução de bloqueio em cada receptáculo.
9. Faça a leitura das densidades ópticas nas absorvâncias de 450 nm e 490 nm (filtro de referência: 630 ou 650 nm) dentro de três horas, e calcule os resultados.

#### Cálculo dos Resultados Analíticos

##### A. Leitura da placa

Leia a placa de microtitulação a 450 nm (filtro de referência 630 ou

650nm). Construa uma curva padrão usando todos os pontos padrões para os quais as densidades ópticas estejam abaixo do limite de linearidade do leitor usado no teste.

Faça a plotagem das densidades ópticas nas ordenadas contra as concentrações padrões nas abscissas, usando o papel gráfico linear ou semi-logarítmico e trace a curva ligando os pontos plotados com linhas retas.

Determine as concentrações de  $IL_2$  das amostras ou controles para os quais as D.O. não sejam maiores do que aquelas do último padrão plotado a 450 nm. Caso qualquer controle ou amostra tenha uma D.O. maior do que a D.O. do último padrão lido a 450 nm, é necessária uma segunda leitura a 490 nm (filtro de referência: 630 ou 650 nm). Proceda conforme descrito acima, para construir uma segunda curva padrão a 490 nm, usando todos os pontos padrões. O segmento da curva traçada entre o último padrão lido a 450 nm e o padrão mais concentrado, será considerado a 490 nm. A concentração das amostras ou controles para os quais as D.O. estão incluídas neste segmento, é lida a 490 nm. Assim, a primeira leitura apresenta a alta sensibilidade do teste e a segunda leitura permite uma faixa padrão ampliada.

Nota: As leituras a 490 nm aplicam-se apenas aos valores fora da escala a 450 nm (acima do limite da linearidade) e não deverá substituir a leitura a 450 nm para os valores abaixo do limite de linearidade do leitor.

B. Exemplo de uma curva de referência típica:

Os seguintes dados são apenas para efeito de demonstração e não podem ser usados no lugar dos dados gerados na ocasião do teste.

Tabela nº 9 - Valores de IL<sub>2</sub> por EASIA em indivíduos adultos saudáveis

<b>IL<sub>2</sub> -EASIA</b>		<b>Modelo Policromático (unidades D.O.)</b>
Padrão	0 U/ml	0,038
	0,9 U/ml	0,156
	2,3 U/ml	0,409
	7,5 U/ml	1,676
	15 U/ml	3,095
	30 U/ml	4,810

#### Faixa Esperada (Intervalo de Referência)

Segundo o laboratório BIOSURCE apenas os resultados preliminares podem ser apresentados, pelo que recomendamos que cada laboratório estabeleça seus próprios valores normais. Para orientação, a média de 300 plasmas normais foi 0,08 U/ml (SD = 12), variando entre 0 U/ml a 1,16 U/ml. Este estudo foi realizado com amostras coletadas em estrita condição de amostragem.

#### Características de Desempenho

##### Concentração Mínima Detectável (MDC)

A concentração MDC é estimada como sendo 0,1 U/ml e é definida como a concentração de IL<sub>2</sub>, correspondente à média das D.O. de 20 réplicas de padrão zero + 2 desvios padrões.

Tabela nº 10 - Precisão do intra-ensaio para IL<sub>2</sub>

INTRA-ENSAIO				INTRA-ENSAIO (dia-a-dia)			
Amostras	N	<x>±SD (U/ml)	CV %	Amostras	N	<x>±SD (U/ml)	CV %
Soro 1	20	3,18±0,18	5,7	Soro 1	20	9,4±0,7	7,5
Soro 2	20	13,32±0,4 8	3,6	Soro2	20	23,9±1,5	6,3

### Especificidade

Não foi observada reação cruzada significativa na presença de 50 ng de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL<sub>3</sub>, IL<sub>4</sub>, IL<sub>6</sub>, IL<sub>7</sub>, IL<sub>8</sub>, IL<sub>10</sub>, IL<sub>15</sub>, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , GM-CSF, OSM, MIP-1 $\alpha$ , LIF, MCP-1, G-CSF. Este teste IL<sub>2</sub> é específico para o IL<sub>2</sub> humano natural e recombinante.

### Interferência dos receptores IL<sub>2</sub> solúveis (sCD-25)

Para verificar a ausência de qualquer intervenção dos receptores IL<sub>2</sub> solúveis (sCD-25) no teste, foi realizada a recuperação de sobrenadantes sCD-25 altamente concentrados.

Tabela nº 11 - Recuperação do sobrenadante de IL<sub>2</sub>

IL <sub>2</sub> adicionado (U/ml)	IL <sub>2</sub> medido em sobrenadante contendo > 3200 U/ml sCD-25	% de Recuperação
0	0,1	-
4,5	4,8	103
9,4	8,8	92
22,4	22,3	99

Tabela nº 12 - Correção da medida IL<sub>2</sub>

RECUPERAÇÃO				TESTE DE DILUIÇÃO			
Amostras	IL <sub>2</sub> Adição U/ml	IL <sub>2</sub> Recuperado U/ml	Recupe- rado %	Amostra	Dilui- ção	Concentra- ção Teórica U/ml	Med. da Conc. U/ml
Soro	28,2	26,9	95,3	Soro	1/1	26,42	26,42
	17,49	16,46	94		1/2	13,21	13,36
	7,17	7,21	100,2		1/4	6,6	6,38
	3,68	3,69	100		1/8	3,3	3,05
					1/16	1,65	1,62
Plasma	28,2	26,1	92,4	Plasma	1/1	10,5	10,5
	17,49	15,98	91,4		1/2	5,25	5,6
	7,17	5,98	83		1/4	2,69	2,69
	3,68	3,55	96,5		1/8	1,31	1,21
					1/16	0,65	0,45
Meio	28,2	29,2	103,7	Meio de	1/1	15,19	15,19
De	17,49	16,97	97	Cultura	1/2	7,59	5,85
Cultura	7,17	7,21	100,2	Celular	1/4	3,79	2,54
Celular	3,68	3,68	100		1/8	1,89	1,24
					1/16	0,94	0,7



Tabela nº 13 - Resumo do procedimento de teste de IL<sub>2</sub>

	Padrões	Amostras de Soro/plasma (µl)	Cultura sobrenadantes/urina(µl)
Solução B	100	100	-
Solução A	-	-	100
Padrões (0-5), controles	100	-	-
Amostras de soro/plasma	-	100	-
Cultura de sobrenadantes/urina	-	-	100
Anticorpo anti-IL <sub>2</sub> conjugado a peroxidase (HRP)	50	50	50
<p>Incube durante 2 horas à temperatura ambiente, com agitação contínua (700 rpm)</p> <p>Aspire o conteúdo de cada receptáculo</p> <p>Lave 3 vezes com 0,4 ml de Solução de Lavagem e aspire.</p>			
Solução Cromogênica TMB	200	200	200
<p>Incube durante 15 minutos à temperatura ambiente, com agitação contínua</p>			
Solução de Parada	50	50	50
<p>Leia num leitor da placa de microtitulação e registre as densidades ópticas de cada receptáculo a 450 nm (versus 630 ou 650 nm) e 490 nm (versus 630 ou 650 nm).</p>			

## CAPÍTULO 6 - RESULTADOS

Os resultados encontrados na pesquisa experimental e na pesquisa de intervenção, foram processados em computador *Pentium S-133MHz*, 32Mb de memória RAM, 2,82 Gb de disco rígido; com *software Solo Statistical System, Windows 95, Excel 97*.

### 6.1 - Resultados do Estudo Experimental

Apresenta-se a tabela nº 14 com os resultados dos exames laboratoriais nos ratos Wistar idosos, durante o procedimento anestésico nos grupos: C, H e A.

Tabela nº 14 - Resultado da mensuração dos lipoperóxidos nas hemácias e explosão respiratória nos grupos C, H e A

GRUPO C n=15		GRUPO H n=15		GRUPO A n=15	
ER	LPH	ER	LPH	IER	LPH
1.20	163.00	1.42	135.00	1.18	75.00
1.41	262.00	1.45	100.00	1.70	185.00
1.02	225.00	1.65	144.00	1.60	225.00
1.80	142.50	1.27	129.00	1.20	300.00
1.50	228.75	1.37	115.00	1.52	225.00
1.33	270.00	1.44	150.00	1.10	75.00
1.39	255.00	1.33	150.00	1.20	225.00
1.60	260.00	1.53	112.00	1.90	75.00
1.50	300.00	1.80	100.00	1.33	262.00
1.53	270.00	2.00	97.00	1.55	265.00
2.97	150.00	1.74	262.00	1.84	337.00
2.04	225.00	1.37	225.00	1.49	375.00
2.18	265.00	1.38	225.00	2.40	380.00
1.70	187.00	1.60	220.00	2.13	450.00
1.45	188.00	1.60	218.00	2.70	185.00

Fonte: Laboratório Hélon Póvoa

As medidas de tendência central dos grupos C, H e A são demonstradas na tabela nº 15.

Tabela nº 15 - Medidas de tendência central dos grupos C, H e A dos exames realizados

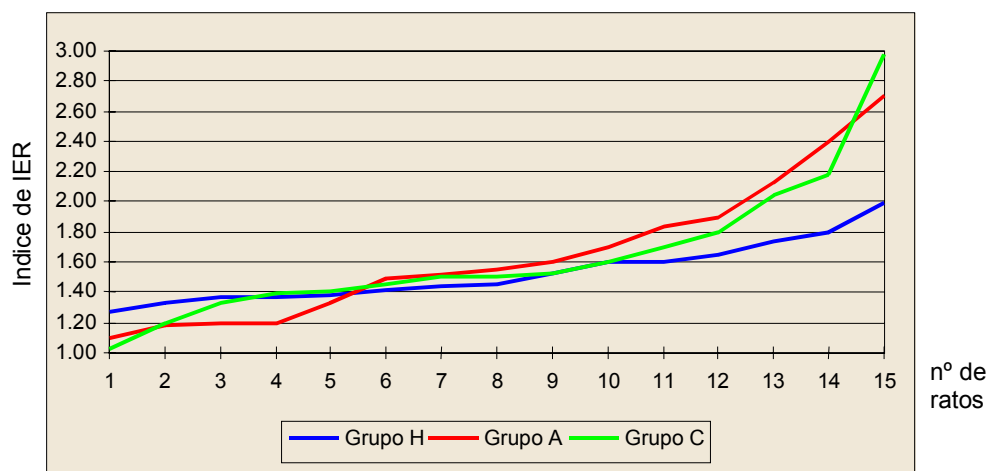
GRUPOS	C		H		A	
	ER	LPH	ER	LPH	ER	LPH
Média	1.64	226.08	1.53	158.80	1.66	242.60
Desvio-padrão	0.47	49.17	0.20	55.64	0.47	114.75

Foram realizados testes estatísticos para verificar diferenças na formação de lipoperóxidos nas hemácias e do índice de explosão respiratória entre os três grupos. Devido a não serem conhecidas as distribuições populacionais das características estudadas, foi realizado teste não paramétrico - Teste de Wilcoxon (Glantz, 1981). Foi calculado o valor de T, que indica diferença entre valores relativos a dois grupos, e que tem distribuição conhecida e tabelada. Foram utilizados os níveis de significância usuais. O nível de significância de 0,05 exprime forte confiança no resultado do teste. O nível de significância de 0,01 exprime extrema confiança no resultado do teste.

Após o cálculo de T, pode-se concluir que não houve significância de 0,05 ou de 0,01 entre as quantidades do índice de explosão respiratória nos grupos estudados.

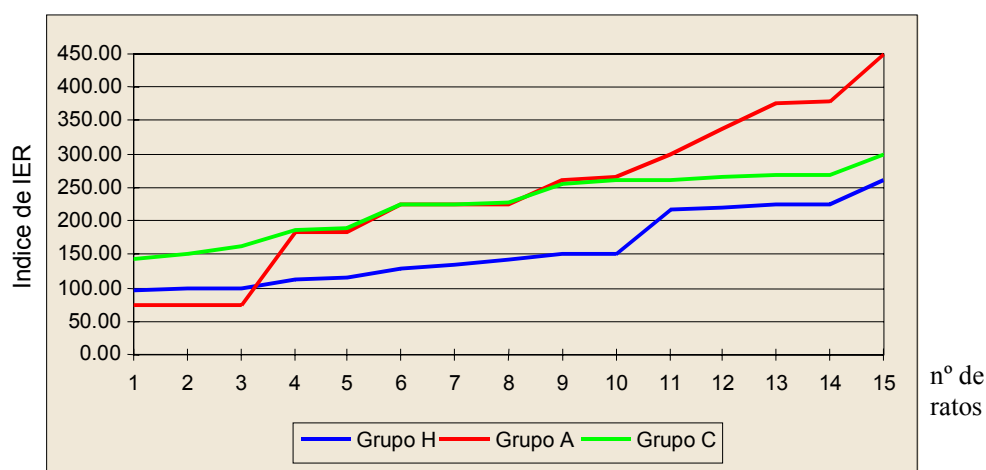
Não houve nos grupos H, A, C, índice de explosão significativa do nível de 0,05 ou 0,01.

Figura nº 6 - Resultados da Explosão Respiratória nos Grupos H, A e C



O grupo H produziu quantidade de LPH significativamente inferior aos grupos A e C ao nível de significância de 0,01. Não foi verificada diferença significativa entre as quantidades de LPH produzidas pelos grupos A e C , mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 7 - Resultados dos lipoperóxidos nas hemácias nos grupos H, A e C



## 6.2 - Resultados do Estudo de Intervenção

A análise dos resultados dos exames laboratoriais visam: 1.º) analisar as medidas de tendência central e de dispersão pré e pós-intervenção; 2.º) detectar alterações nos valores das variáveis propostas por grupo, no pré e pós anestésico; 3.º) verificar diferenças entre os três grupos, nas alterações dos valores pré e pós-intervenção; 4.º) verificar a correlação entre o aumento de LPH, radicais livres, explosão respiratória e cortisol, com as variações das interleucina<sub>1</sub> beta e interleucina<sub>2</sub>; CD4, CD8 e linfócitos T e B; 5.º) percentual de infecção mediata (8 –14 dias).

A amostra composta de 90 idosos, divididos em três grupos de 30, não possui representatividade populacional, em virtude do seu tamanho, o que não autoriza a generalização dos resultados para idosos com 60-69 anos, para qualquer tipo de intervenção cirúrgica sob qualquer condição física. Portanto, o conjunto de conclusões são baseados nos dados obtidos para os idosos que estão dentro dos critérios de inclusão e exclusão para a intervenção proposta.

Para tanto, foram realizados 43 testes estatísticos para verificar diferenças nos valores das variáveis antes e depois da intervenção, 45 testes estatísticos para verificar diferenças entre as alterações observadas destes valores nos três grupos formados, e 63 testes estatísticos para verificar correlações. Foram realizados, respectivamente, os testes de Wilcoxon, de Mann - Whitney e de correlação de Kendall.

Foram utilizados os níveis de significância usuais. O nível de significância de 0,05 exprime forte confiança no resultado do teste. O nível de significância de 0,01 exprime extrema confiança no resultado do teste.

Foi usada a simbologia # N/D toda vez que o dado não está disponível nos testes estatísticos.

Foi utilizado o teste de Wilcoxon para verificar alterações nos valores, antes e após a intervenção. Nas tabelas a seguir, N é o número de idosos considerados e T é o valor calculado para o teste de Wilcoxon. Devido ao número de observações disponíveis ser satisfatório, foi utilizada a aproximação de  $z \sim N(0,1)$  por

$$z = [T - N(N+1)/4] / \text{SQRT}[N(N+1)(2N+1)/24]$$

Foi utilizado o teste de Mann-Whitney para verificar diferenças entre os três grupos, nas alterações dos valores antes e depois da intervenção. Nas tabelas a seguir,  $n_1$  e  $n_2$  são os números de idosos nos dois grupos considerados, e  $U$  é o valor calculado para o teste de Mann-Whitney. Como acima, foi utilizada a aproximação de  $z \sim N(0,1)$  por

$$z = [U - (n_1.n_2/2)] / \text{SQRT}[n_1.n_2.(n_1+n_2+1)/12].$$

Foi utilizado o teste de correlação de Kendall para verificar se aumento em uma variável se correlaciona com aumento/diminuição em outras variáveis. Foi calculado o coeficiente de correlação de Kendall ( $\tau$ ). Devido ao tamanho da amostra, foi considerada a aproximação da distribuição de  $\tau$  pela distribuição de  $z \sim N(0,1)$  por

$$z = \tau / \text{SQRT}[2(2N+5)/9N(N-1)].$$

Os dados da pesquisa foram extraídos dos formulários próprios para este estudo (anexo 5); os componentes receberam um código alfa numérico (ex. pré 1: refere-se aos exames do primeiro paciente avaliado pré-intervenção; pós 1: os exames do mesmo pós-intervenção), a necessidade do código alfa numérico é para garantir a privacidade e proteção da imagem dos que compõe esta pesquisa. (C.N.S., 196/96) (anexo 7)

Nos quadros que seguem, apresentam-se os resultados individuais pré e pós-intervenção por grupos.

## Dados Gerais

Tabela nº 16 - Resultados das avaliações pré-intervenção das variáveis LTotais, CD4, CD8, IL<sub>1</sub>, IL<sub>2</sub>, radicais livres, ER, LPH, cortisol, LT e LB no grupo G

Anestesia Geral - Pré-operatório													
Identifica	Idade	Sexo	LTOTAIS	CD4	CD8	IL1	IL2	ER	RL	LPH	CORTI-SOL	LT	LB
pre 17	61	M	5700	823	221	0	0,1	2,5	456000	880	16,1	1141	151
pre 81	81	F	7000	841	906	22	0,0	4,5	690000	593	11,1	1776	556
pre 60	68	m	11400	718	412	32	0,0	1,7	526000	650	14,7	1252	478
pre 59	62	f	8100	898	1022	38	0,0	1,8	223000	645	12,8	2120	550
pre 6	69	m	6700	581	483	8	0,2	2,3	417000	487	6,4	1090	156
pre 25	62	f	8200	1244	901	65	0,1	2	441000	431	11,5	2216	137
pre 65	64	m	7600	1134	236	60	0,3	6,2	1224000	571	19,9	1451	307
pre 28	68	m	9800	1094	287	18	0,1	2,2	324000	595	11,2	1435	153
pre27	62	f	8800	1236	502	25	0,1	2,1	456000	646	15,3	1822	308
pre21	69	f	6700	805	701	20	0,0	2,8	222000	513	8,9	1919	166
pre16	69	m	8700	1122	318	5	0,0	2	334000	714	14,6	1467	185
pre 55	65	m	6200	1154	362	0	0,0	2,6	705000	869	16,4	1625	297
pre95	62	m	3900	571	651	10	0,1	3,7	387000	696	20,0	1118	424
pre63	61	m	7500	439	348	18	0,0	2,6	705000	699	26,7	817	125
pre18	62	f	8900	430	190	50	0,0	3,3	469000	1200	20,5	697	193
pre62	63	f	6000	736	491	50	0,0	8	608000	699	20,5	1417	178
pre20	63	m	5600	446	229	10	0,0	7,9	518000	1200	8,8	717	323
pre11	69	m	11200	1091	235	75	0,0	5,3	657000	412	15,0	1327	402
pre29	62	m	7900	952	926	100	0,0	2,1	242000	459	17,5	2084	697
pre51	64	m	6100	655	542	32	0,0	2,1	381000	402	20,1	1655	222
pre56	60	m	11800	1450	230	60	0,0	2,1	381000	687	14,6	1705	255
pre52	60	f	7200	549	648	38	0,0	3,3	286000	736	20,8	1206	214
pre30	68	f	5100	488	511	35	0,0	2,2	244000	612	14,2	1068	71
pre78	62	f	7900	1444	530	35	0,1	2	293000	559	11,8	2042	625
pre 53	68	f	6300	816	570	32	0,2	2,4	318000	571	20,3	1558	197
pre91	62	f	8600	418	400	20	0,0	2,8	453000	417	13,9	859	259
pre 24	63	f	12000	554	302	35	0,0	2,6	630000	511	10,8	914	396
pre32	60	m	6900	639	691	0	0,0	3,1	236000	373	12,3	1380	237
pre83	67	f	9000	1391	916	10	0,0	8	608000	699	20,5	2350	285
pre 08	60	m	12000	480	654	8	0,0	2,9	500000	584	15,6	1680	309

Tabela nº 17 - Resultados das avaliações pós-intervenção das variáveis LTotais, CD4, CD8, IL<sub>1</sub>, IL<sub>2</sub>, ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT, LB no grupo G

Anestesia Geral - Pós-operatório													
Identifica	idade	sexo	LTOTAIS	CD4	CD8	IL1	IL2	ER	RL	LPH	CORTI-SOL	LT	LB
pre 17	61	m	11000	319	108	35	0,2	7,2	585000	332	24,9	455	117
pre 81	81	f	10400	430	408	10	0,0	4,7	623000	702	17,9	863	424
pre 60	68	m	8100	1380	502	30	0,0	5,5	885000	885	14,9	1933	205
pre 59	62	f	4900	512	1115	10	0,0	1,6	436000	883	18,3	1690	287
pre 6	69	m	4900	790	247	40	0,3	2,3	554000	338	13,2	1072	157
pre 25	62	f	7200	1224	901	110	0,1	2	394000	560	14,6	2216	137
pre 65	64	m	6300	616	587	10	0,3	4,4	409000	1200	38,2	1261	153
pre 28	68	m	7800	988	363	22	0,1	2	334000	459	17,6	2012	152
pre27	62	f	7300	1404	391	35	0,0	2,1	212000	357	17,1	1845	624
pre21	69	f	6500	404	375	10	0,0	5,7	292000	499	12,5	977	118
pre16	69	m	9400	883	191	10	0,0	4,4	846000	714	13,2	1086	255
pre 55	65	m	5600	446	229	10	0,0	6,2	1224000	1200	20,5	717	322
pre95	62	m	3200	568	491	20	0,2	2,7	581000	634	18	1200	378
pre63	61	m	6900	389	324	22	0,0	2,4	228000	601	20,6	1336	157
pre18	62	f	6000	736	491	35	0,0	2,3	354000	969	16,1	1417	178
pre62	63	f	11000	1399	1387	35	0,0	4	224000	744	16,6	2961	428
pre20	63	m	6300	816	570	0	0,0	3,3	469000	756	16,1	718	197
pre11	69	m	10100	983	208	20	0,0	12	1458000	632	23	863	424
pre29	62	m	6800	294	446	100	0,0	2,1	381000	639	23,8	1428	374
pre51	64	m	6000	736	491	10	0,0	2,6	705000	476	26,7	1417	178
pre56	60	m	8600	1450	400	22	0,0	3	228000	844	16,6	1376	299
pre52	60	f	6000	736	491	18	0,0	5,3	657000	844	20,3	1428	375
pre30	68	f	3200	568	191	35	0,0	2,4	318000	844	16,6	754	170
pre78	62	f	6800	446	284	22	0,1	2,4	318000	639	16,6	833	374
pre 53	68	f	5600	446	229	22	0,0	5,3	657000	639	38,2	717	322
pre91	62	f	7500	439	367	10	0,0	5,3	657000	577	16,1	817	152
pre 24	63	f	8600	400	418	50	0,0	4,3	427000	457	15,8	859	299
pre32	60	m	4100	228	606	20	0,0	2	317000	473	13	871	154
pre83	67	f	6800	898	630	0	0,0	7,9	518000	756	12,5	1693	276
pre 08	60	m	10900	639	565	100	0,0	3,3	422000	451	18,2	1202	378



Tabela nº 18 - Resultado das avaliações pré-intervenção das variáveis LTotais, CD4, CD8, IL<sub>1</sub>, IL<sub>2</sub>, ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT, LB, no grupo P

Anestesia Peridural - Pré-operatório													
ident	idade	sexo	leuc.totais	CD4	CD8	IL1	IL2	E R	RL	LPH	COR-TISOL	LT	LB
pre57	64	f	5500	164	561	0	0,0	2,1	381000	678	16	2264	311
pre05	68	m	7100	859	484	25	0,0	2	399000	464	16	1359	344
pre10	64	f	5600	229	446	70	0,0	2,4	319000	500	18,7	717	322
pre11	63	m	12000	554	302	100	0,0	2,8	462000	577	16,3	914	396
pre14	69	m	5900	687	310	2	0,0	2,6	476000	476	8,8	1005	76
pre07	64	m	6200	661	443	30	0,0	2	407000	446	9,8	1122	131
pre02	64	m	7600	794	276	10	0,0	3	434000	675	11,1	1074	222
pre01	69	m	10700	725	338	10	0,0	1,7	379000	564	8,3	1114	278
pre23	60	f	8900	2489	545	20	0,0	2,3	461000	502	12,6	2489	457
pre66	62	f	6700	448	1164	10	0,0	2,1	133000	812	9,9	1599	412
pre58	65	f	9200	911	1027	35	0,0	1,8	353000	737	17,6	1990	460
pre67	68	m	9100	593	380	10	0,0	4,4	414000	725	16,7	1088	259
pre87	65	m	6200	1151	400	10	0,0	2	510000	677	10	1625	523
pre75	60	f	3800	609	614	30	0,0	2	408000	663	7,9	1329	86
pre84	61	m	5600	1026	368	22	0,0	1,7	440000	652	16,6	1634	398
pre92	63	f	8600	792	379	10	0,0	2,3	361000	576	15,1	792	264
pre64	69	m	6700	615	571	18	0,0	5,6	1011000	774	23,6	1228	138
pre77	69	m	10800	1613	629	0	0,0	2,5	456000	911	6,6	2326	576
pre70	68	m	9900	665	324	70	0,0	4,2	530000	699	7,5	1470	225
pre03	68	m	6700	714	315	12	0,0	1,7	305000	552	10,6	1060	260
pre90	63	f	10600	658	485	8	0,0	2,9	669000	545	13,8	1227	127
pre85	63	m	16100	2780	118	35	0,0	2,3	350000	680	16,7	1257	1526
pre80	60	m	8400	1312	718	0	0,0	5	686000	815	15,1	2057	277
pre76	68	f	8800	392	715	0	0,0	7,4	783000	612	26,9	1243	193
pre 74	62	f	3900	571	651	10	0,1	1,6	387000	643	8	1230	104
pre46	62	f	12600	1719	738	20	0,0	2,1	168000	634	19	2574	609
pre36	69	m	3800	524	447	50	0,0	11,7	380000	500	11,7	1062	148
pre34	69	f	7800	1154	393	50	0,0	2,6	216000	552	16,7	1577	274
pre31	62	f	7900	972	498	75	0,0	4,6	280000	522	19,4	1770	121
pre26	69	m	13800	960	541	10	0,0	8,6	811000	659	15,6	1667	79

Tabela nº 19 - Resultado das avaliações pós-intervenção das variáveis LTotais, CD4, CD8, IL<sub>1</sub>, IL<sub>2</sub>, ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT, LB, no grupo P

Anestesia Peridural - Pós-operatório													
ident	idade	sexo	leuc.totais	CD4	CD8	IL1	IL2	E R	RL	LPH	COR-TISOL	LT	LB
pre57	64	f	7500	784	1471	10	0,0	3,3	469000	673	26,7	2309	264
pre05	68	m	10200	607	256	40	0,0	2,6	376000	639	12,1	865	361
pre10	64	f	6000	294	446	80	0,0	2,9	467000	316	18	833	374
pre11	63	m	10000	331	658	100	0,0	3	429000	882	17	1035	225
pre14	69	m	7700	671	385	20	0,0	3,5	456000	677	15,4	1071	63
pre07	64	m	6200	468	669	40	0,0	2,3	445000	412	7,3	1139	384
pre02	64	m	6000	491	736	130	0,0	2,6	470000	750	21,4	1417	178
pre01	69	m	6700	691	205	10	0,0	3,5	324000	559	6,3	1332	269
pre23	60	f	6700	1138	596	58	0,0	3,1	354000	632	15,5	1873	428
pre66	62	f	6100	500	758	60	0,0	3,5	630000	714	10,9	1264	268
pre58	65	f	10700	1078	445	22	0,0	1,9	456000	865	19	1627	199
pre67	68	m	10000	1130	312	38	0,0	6,4	578000	715	9,7	1522	342
pre87	65	m	5400	436	190	38	0,0	3	228000	1023	14,6	679	193
pre75	60	f	5500	1224	594	10	0,0	3,5	530000	803	18,1	1836	402
pre84	61	m	6900	839	375	35	0,0	2,4	423000	821	12,5	1665	168
pre92	63	f	7400	529	578	20	0,0	2,6	223000	625	15,6	1151	235
pre64	69	m	5700	615	571	20	0,0	11,2	783000	880	14	1228	138
pre77	69	m	11600	2110	1104	10	0,0	3,1	432000	600	16,6	3325	465
pre70	68	m	12000	565	292	70	0,0	8,7	865000	770	27,8	888	145
pre03	68	m	5400	800	256	8	0,0	1,5	356000	536	8,3	1157	300
pre90	63	f	8500	1114	1119	10	0,0	7,9	518000	741	12,5	2339	466
pre85	63	m	12800	2057	320	22	0,0	3,8	413000	539	11,6	1239	562
pre80	60	m	11800	960	368	9	0,0	3,9	491000	626	15	1518	408
pre76	68	f	7800	609	969	10	0,0	2,5	428000	783	23	2565	314
pre 74	62	f	3200	568	491	30	0,0	3,7	599000	696	25,6	1184	170
pre46	62	f	12600	1154	228	0	0,0	8,8	411000	398	14,5	1629	294
pre36	69	m	3500	534	348	25	0,0	6,6	361000	1031	6,6	918	185
pre34	69	f	6700	1158	683	25	0,0	2,8	344000	476	11,7	1487	181
pre31	62	f	10700	789	315	85	0,0	2	328000	514	9,6	1274	171
pre26	69	m	7400	1377	400	10	0,0	2,2	382000	436	17,1	1821	641

Tabela nº 20 - Resultados das avaliações pré-intervenção das variáveis LTotais, CD4, CD8, IL<sub>1</sub>, IL<sub>2</sub>, ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT, LB, no grupo TC

Técnica Combinada - Pré-operatório													
ident	Idade	sexo	leuc.totais	CD4	CD8	IL1	IL2	ER	RL	LPH	CORTI SOL	LT	LB
pre33	60	m	3800	650	196	25	0	2,0	189000	584	14,90	846	167
pre35	64	m	3800	513	196	25	0,3	2,0	275000	794	11,10	1101	154
pre19	68	f	6900	923	371	35	0	2,0	468000	870	10,50	1371	181
pre15	63	m	8000	712	379	15	0	2,3	356000	844	11,10	1193	308
pre13	69	m	6500	1346	614	5	0,2	2,0	472000	521	11,10	2099	308
pre47	61	m	7000	1279	391	10	0,1	3,0	291000	493	16,50	1854	367
pre89	68	m	9900	1669	1077	32	0	4,0	525000	756	7,00	2903	1115
pre69	61	f	7400	868	383	25	0	3,2	61000	814	16,00	1443	250
pre22	62	m	9400	1445	529	20	0	3,3	543000	438	16,80	2216	287
pre68	64	f	7400	1712	719	20	0	3,1	211000	786	23,70	2527	390
pre73	63	f	5800	716	415	70	0,2	5,5	505000	589	15,30	1148	220
pre71	69	m	6900	1013	273	15	0	5,6	509000	670	13,20	1292	316
pre72	64	f	5700	684	462	10	0	2,6	238000	649	10,00	1153	212
pre61	63	f	7400	640	300	38	0	1,3	423000	863	15,20	1295	419
pre82	61	f	7900	361	398	18	0,3	5,5	393000	706	20,50	996	403
pre49	68	m	8900	436	190	5	0,2	2,8	399000	479	11,30	679	193
pre50	68	f	7000	1086	683	10	0	2,3	428000	408	20,60	1890	260
pre48	62	m	4500	384	711	38	0	2,3	368000	490	19,10	1187	105
pre45	61	f	3500	606	209	22	0	2,2	268000	686	18,10	845	210
pre86	62	f	8900	842	518	0	0	3,6	881000	792	13,70	1777	331
pre88	61	f	8100	621	357	25	0	3,8	115000	675	17,50	995	260
pre37	68	f	7500	439	348	38	0	1,7	305000	552	9,50	817	125
pre40	60	m	8500	1056	708	10	0	3,3	470000	659	10,60	1823	185
pre38	64	m	6300	816	570	10	0	2,6	216000	536	16,30	1538	197
pre41	67	f	5600	466	253	20	0	2,8	344000	592	11,70	775	333
pre54	60	m	8600	418	400	30	0	5,6	374000	1011	11,70	859	299
pre44	69	m	13200	998	499	18	0	2,4	382000	584	2,40	1507	36
pre43	65	m	7800	900	664	0	0	2,8	450000	686	2,80	1599	288
pre42	68	f	10600	658	485	60	0,3	2,9	609000	545	13,80	1227	127
pre4	69	m	8600	792	379	8	0	2,5	456000	700	11,80	792	269

Tabela nº 21 - Resultados das avaliações pós-intervenção das variáveis LTotais, CD4, CD8, IL1, IL2, ER, radicais livres, LPH, cortisol, LT, LB, no grupo TC

Técnica Combinada - pós-operatória													
ident	Idade	sexo	leuc.totais	CD4	CD8	IL1	IL2	ER	RL	LPH	CORTI SOL	LT	LB
pre33	60	m	4000	636	236	150	0,1	2,7	308000	571	12,60	896	133
pre35	64	m	3800	650	196	80	0	2,0	396000	803	6,30	846	167
pre19	68	f	6900	932	371	25	0	2,0	269000	574	10,50	1371	181
pre15	63	m	7600	543	303	5	0,1	3,6	540000	748	33,30	973	275
pre13	69	m	10500	1364	764	15	0,1	2,6	414000	754	14,00	2314	396
pre47	61	m	12600	1304	258	0	0	7,1	471000	471	15,60	1659	271
pre89	68	m	10000	1339	386	0	0	3,9	253000	467	11,80	1819	403
pre69	61	f	11900	869	444	80	0	5,4	214000	638	25,70	1524	431
pre22	62	m	9800	2246	533	10	0	3,6	634000	316	27,40	2819	514
pre68	64	f	9500	923	481	20	0	7,2	478000	703	9,80	1440	283
pre73	63	f	11500	522	374	70	0,3	5,1	870000	663	16,50	899	206
pre71	69	m	11000	559	336	25	0	7,2	640000	643	16,60	942	208
pre72	64	f	6900	967	508	66	0	2,7	402000	750	19,70	1581	291
pre61	63	f	8800	958	795	10	0,3	5,4	214000	598	15,10	2002	604
pre82	61	f	4700	970	287	22	0	13,5	801000	907	12,50	1313	113
pre49	68	m	12900	1571	279	15	0	3,6	194000	523	15,30	1868	311
pre50	68	f	10100	1605	309	0	0	4,7	169000	614	14,90	1971	329
pre48	62	m	6000	1324	563	10	0	5,3	423000	556	15,60	2088	294
pre45	61	f	4200	748	390	60	0	1,9	318000	428	25,50	1173	192
pre86	62	f	12000	447	206	8	0	2,3	481000	545	16,70	752	194
pre88	61	f	7600	704	598	30	0	2,5	261000	354	15,10	1497	191
pre37	68	f	8800	969	652	38	0	1,4	308000	748	11,30	1145	190
pre40	60	m	7800	1056	393	15	0	3,0	505000	592	14,10	1577	274
pre38	64	m	5800	504	1324	38	0	2,6	396000	645	16,90	1867	90
pre41	67	f	6700	715	314	20	0	2,0	374000	552	9,60	1060	260
pre54	60	m	8900	436	190	10	0	3,0	228000	1023	14,60	679	193
pre44	69	m	11600	710	599	22	0	6,6	318000	600	2,40	3325	65
pre43	65	m	6500	1098	418	10	0,2	3,8	663000	848	3,80	1686	307
pre42	68	f	8500	1149	1119	10	0	7,9	518000	741	12,50	2339	466
pre4	69	m	8500	708	1053	10	0	3,1	432000	880	7,50	708	105

As medidas de tendência central por variável e nos grupos de intervenção pré e pós são apresentadas na tabela nº 22.

Tabela nº 22 - Medidas de tendência central da variável leucócitos totais nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção

<b>Leucócitos totais</b>	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	7960	7127	8217	7957	7380	8513
Mediana	7750	6800	7850	7400	7400	8650
Desvio padrão	2093	2124	2898	2619	2042	2582
até 8000						
Média	6488	6506	6063	6419	6335	7890
Mediana	6700	6300	6200	6050	6900	7250
Desvio padrão	1024	2280	1294	1913	1399	2701
Acima de 8000						
Média	9885	7938	10679	9714	9470	9760
Mediana	9000	7800	10250	10000	8900	9350
Desvio padrão	1485	1567	2173	2173	1427	1753

Tabela nº 23 - Medidas de tendência central da variável CD4 nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção

<b>CD4</b>	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	840	719	911	854	835	951
Mediana	811	628	720	738	754	928
Desvio padrão	321	354	576	436	360	402
Abaixo de 589						
Média	496	608	412	517	431	948
Mediana	484	604	448	534	436	969
Desvio padrão	60	153	149	155	47	366
entre 589 e 1505						
Média	1012	774	835	818	888	935
Mediana	1022	676	792	789	842	869
Desvio padrão	253	409	206	282	240	423
Acima de 1505						
Média	#N/D	#N/D	2150	1615	1691	1131
Mediana	#N/D	#N/D	2104	1606	1691	1131
Desvio padrão	#N/D	#N/D	496	469	22	208

Tabela nº24 - Medidas de tendência central da variável CD8 e nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção

CD8	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	514	466	506	538	456	489
Mediana	497	413	466	446	399	392
Desvio padrão	241	268	214	301	196	276
Abaixo de 325						
Média	250	371	274	441	231	364
Mediana	235	400	306	353	209	314
Desvio padrão	40	161	71	186	41	186
Entre 325 e 997						
Média	607	477	516	559	499	534
Mediana	556	427	492	469	474	463
Desvio padrão	182	266	119	329	128	292
Acima de 997						
Média	1022	1115	1096	602	1077	386
Mediana	1022	1115	1096	602	1077	386
Desvio padrão	0	0	69	157	0	0

Tabela nº 25 - Medidas de tendência central da variável interleucina<sub>1</sub> beta nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção

Interleucina <sub>1</sub>	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	30	29	25	35	22	29
Mediana	29	22	15	24	20	18
Desvio padrão	24	27	25	31	16	32
Abaixo de 9						
Média	4	36	2	12	4	12
Mediana	3	28	0	10	5	10
Desvio padrão	4	31	3	4	3	3
entre 9 e 10						
Média	10	7	10	42	10	24
Mediana	10	0	10	34	10	15
Desvio padrão	0	9	0	37	0	25
acima de 10						
Média	41	30	41	40	29	35
Mediana	35	22	33	30	25	22
Desvio padrão	21	27	25	29	14	36

Tabela nº 26 - Medidas de tendência central da variável interleucina<sub>2</sub> nos grupos G, P e TC, pré e pós-intervenção

Interleucina <sub>2</sub>	Geral		Peridural		Técnica Combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
Mediana	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Desvio padrão	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1

Tabela nº 27 - Medidas de tendência central da variável E.R. nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção.

ER	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	3.3	4.0	3.3	4.0	3.0	4.3
Mediana	2.6	3.3	2.4	3.1	2.8	3.6
Desvio padrão	1.8	2.2	2.3	2.3	1.2	2.5
abaixo de 1,6						
Média	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	1.3	5.4
Mediana	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	1.3	5.4
Desvio padrão	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0.0	0.0
Entre 1,6 e 4,8						
Média	2.5	3.6	2.5	3.7	2.7	3.7
Mediana	2.4	2.7	2.3	3.1	2.6	3.1
Desvio padrão	0.6	1.6	0.8	2.0	0.6	1.8
Acima de 4,8						
Média	7.1	6.3	7.7	5.3	5.6	7.2
Mediana	7.9	4.4	7.4	3.9	5.6	6.2
Desvio padrão	1.1	3.3	2.4	3.3	0.0	3.9

Tabela nº 28 - Medidas de tendência central da variável radicais livres nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção

Radicais Livres	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	464467	523767	445633	452300	384133	416400
Mediana	447000	431500	407500	430500	387500	399000
Desvio padrão	205502	282263	184907	135590	157662	173483
abaixo de 400.000						
Média	297769	466923	315071	411214	281471	378235
Mediana	293000	381000	351500	393500	291000	374000
Desvio padrão	59184	189366	82625	104497	96635	141635
igual ou acima de 400.000						
Média	591941	567235	559875	488250	518385	466308
Mediana	526000	469000	469000	450500	472000	481000
Desvio padrão	185331	329872	173686	148820	115521	197041

Tabela nº 29 - Medidas de tendência central da variável LPH nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção.

LPH	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	618	667	627	671	659	642
Mediana	595	639	639	675	665	626
Desvio padrão	169	223	113	173	143	158
Abaixo de 482						
Média	416	560	462	576	442	484
Mediana	415	569	464	639	438	523
Desvio padrão	26	66	12	117	29	125
Entre 482 e 1089						
Média	646	683	646	682	683	659
Mediana	646	671	652	696	675	643
Desvio padrão	100	239	103	175	130	152
acima de 1089						
Média	1200	969	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
Mediana	1200	969	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
Desvio padrão	0	0	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D



Tabela nº 30 - Medidas de tendência central da variável cortisol nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção

<b>Cortisol</b>	<b>Geral</b>		<b>Peridural</b>		<b>Técnica combinada</b>	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	15.4	18.9	14.1	15.1	13.5	14.8
Mediana	14.9	16.9	15.1	14.8	13.5	14.8
Desvio padrão	4.5	6.2	4.8	5.6	4.7	6.5
Abaixo de 4,30						
Média	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	2.6	3.1
Mediana	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	2.6	3.1
Desvio padrão	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	0.2	0.7
Entre 4,30 e 22,40						
Média	15.0	18.9	13.3	14.9	13.9	15.8
Mediana	14.7	16.6	14.5	14.8	13.7	15.1
Desvio padrão	4.0	6.3	3.9	5.6	3.5	5.9
Acima de 22,40						
Média	26.7	20.6	25.3	18.5	23.7	9.8
Mediana	26.7	20.6	25.3	18.5	23.7	9.8
Desvio padrão	0.0	0.0	1.6	4.5	0.0	0.0

Tabela nº 31 - Medidas de tendência central da variável LB nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção

<b>Linfócitos B</b>	<b>Geral</b>		<b>Peridural</b>		<b>Técnica combinada</b>	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	295	269	320	293	277	265
Mediana	257	266	269	269	260	266
Desvio padrão	155	121	268	133	180	126
Abaixo de 99						
Média	71	170	80	369	36	65
Mediana	71	170	79	402	36	65
Desvio padrão	0	0	4	237	0	0
entre 99 e 426						
Média	245	260	248	264	256	267
Mediana	230	226	260	264	260	266
Desvio padrão	85	126	94	94	85	122
Acima de 426						
Média	581	333	692	357	1115	403
Mediana	556	374	550	361	1115	403
Desvio padrão	74	78	377	138	0	0

Tabela nº 32 - Medidas de tendência central da variável LT nos grupos G, P e TC pré e pós-intervenção

Linfócitos T	Geral		Peridural		Técnica combinada	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Todos						
Média	1464	1267	1462	1473	1392	1538
Mediana	1443	1201	1293	1303	1260	1511
Desvio padrão	447	536	489	566	539	626
Abaixo de 812						
Média	707	1068	755	992	749	1212
Mediana	707	1068	755	992	775	1060
Desvio padrão	10	350	38	159	50	486
Entre 812 e 2318						
Média	1487	1266	1399	1415	1363	1570
Mediana	1451	1200	1257	1274	1292	1524
Desvio padrão	388	548	349	465	394	651
Acima de 2318						
Média	2350	1693	2463	2276	2715	1630
Mediana	2350	1693	2489	1873	2715	1630
Desvio padrão	0	0	103	749	188	190

## LEUCÓCITOS TOTAIS

Tabela nº 33 - Alterações dos leucócitos totais por grupos de intervenção

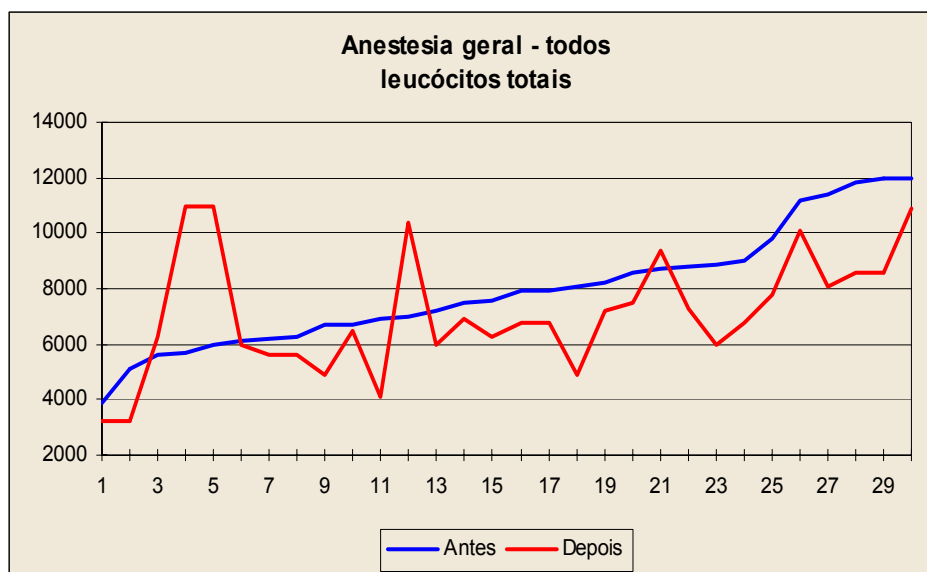
Grupo	Wilcoxon	N	T	Z	Probab	0.05	0.01
<b>G</b>	Todos	30	365.5	2.736	0.0062	SIM	SIM
	Até 8.000/ $\mu$ l	17	54	-1.065	0.2868	NÃO	NÃO
	Acima de 8.000/ $\mu$ l	13	90	3.110	0.0019	SIM	SIM
<b>P</b>	Todos	30	220	-0.257	0.6987	NÃO	NÃO
	Até 8.000/ $\mu$ l	16	75.5	0.388	0.3486	NÃO	NÃO
	Acima de 8.000/ $\mu$ l	14	64.5	0.753	0.2257	NÃO	NÃO
<b>TC</b>	Todos	28	303.5	2.289	0.0221	SIM	NÃO
	Até 8.000/ $\mu$ l	18	145.5	2.613	0.0090	SIM	SIM
	Acima de 8.000/ $\mu$ l	10	27.5	0.000	1.0000	NÃO	NÃO

Tabela nº 34 - Alterações dos leucócitos totais verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	N1	N2	U	Z	Probab	0.05	0.01
<b>G x P</b>	Todos	30	30	580.5	1.929	0.0537	NÃO	NÃO
	Até 8.000/ $\mu$ l	16	17	174.5	1.387	0.1655	NÃO	NÃO
	Acima de 8.000/ $\mu$ l	13	14	66	-1.213	0.2251	NÃO	NÃO
<b>G x TC</b>	Todos	30	30	729.5	4.132	0.0000	SIM	SIM
	Até 8.000/ $\mu$ l	17	20	70.5	-3.032	0.0024	SIM	SIM
	Acima de 8.000/ $\mu$ l	10	13	111	2.853	0.0043	SIM	SIM
<b>P x TC</b>	Todos	30	30	593	2.114	0.0345	SIM	NÃO
	Até 8.000/ $\mu$ l	16	20	106.5	-1.703	0.0885	NÃO	NÃO
	Acima de 8.000/ $\mu$ l	10	14	88.5	1.083	0.2787	NÃO	NÃO

Figura 8 - Valores dos leucócitos totais nos idosos do grupo G, antes e após intervenção

LT mil./ $\mu$ l



nº de idosos

Para todos os idosos deste grupo, pode-se concluir que há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,01.

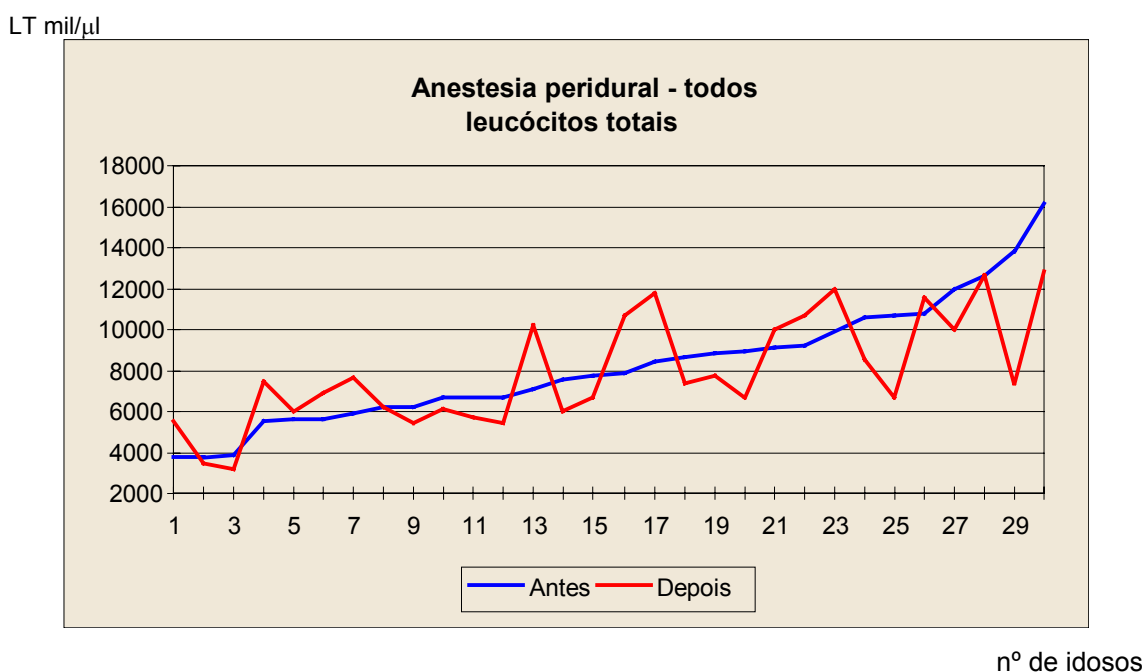
Os grupos foram subdivididos, de acordo com os valores de leucócitos

totais no pré-operatório, em dois: um até 8.000/ $\mu$ l, e outro acima deste valor.

Para o subgrupo até 8.000/ $\mu$ l, pode-se concluir que não há alteração, mesmo ao nível de significância de 0,05. Para o subgrupo acima de 8.000/ $\mu$ l, contudo, pode-se concluir que há alteração mesmo ao nível de significância de 0,01. Este último resultado pode explicar a alteração estatisticamente observada para todo o grupo.

Para este grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura 9 - Valores dos leucócitos totais nos idosos do grupo P, antes e após a intervenção

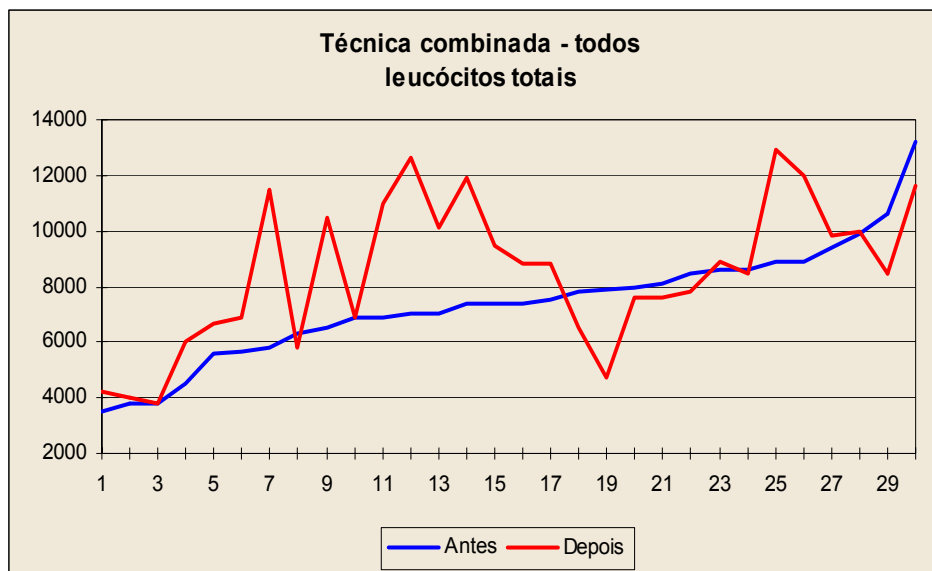


Para todos os idosos do grupo TC, pode-se concluir que há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, ao nível de significância de 0,05, mas não ao nível de significância de 0,01.

Para o subgrupo até 8.000/ $\mu$ l, pode-se concluir que há esta alteração, mesmo ao nível de significância de 0,01. Para o subgrupo acima de 8.000/ $\mu$ l, contudo, pode-se concluir que não há esta alteração, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 10 - Valores dos leucócitos totais nos idosos do grupo TC, antes e após a intervenção

LT mil/ $\mu$ l



nº de idosos

Na comparação entre as técnicas G e P, pode-se afirmar que não há diferença nas alterações dos leucócitos totais observados nos grupos G e P, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Na comparação entre os grupos G e TC, pode-se concluir que há diferença nas alterações observadas para os grupos, mesmo ao nível de significância de 0,01.

Os grupos P e T C apresentaram diferença nas alterações observadas ao nível de significância 0,05, mas não ao nível de 0,01.

## CD4

Tabela nº 35 - Alterações do CD4 por grupos de intervenção

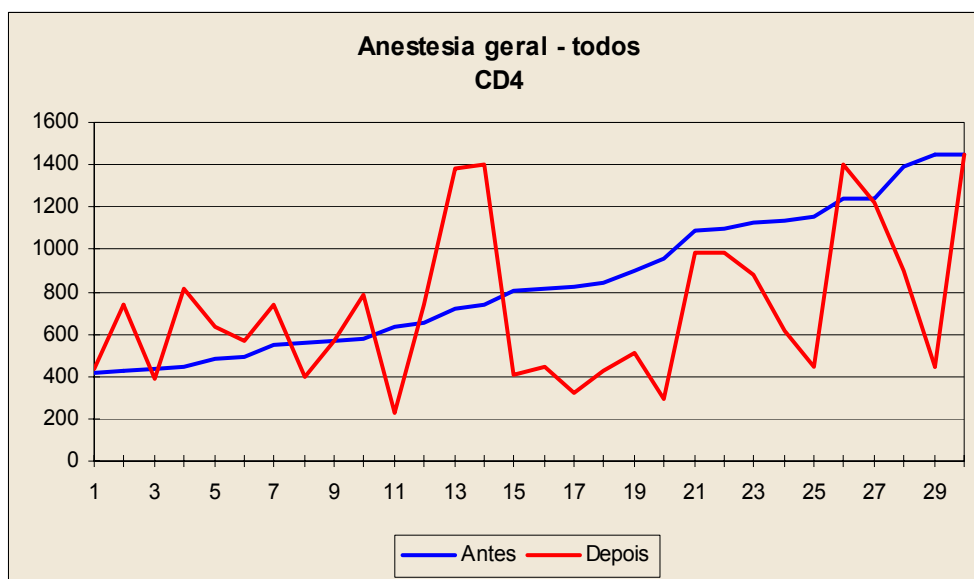
Grupo	Wilcoxon	N	T	Z	Probab	0.05	0.01
<b>G</b>	Todos	29	290.5	1.578	0.1145	NÃO	NÃO
<b>P</b>	Todos	30	248	0.319	0.3749	NÃO	NÃO
<b>TC</b>	Todos	29	282	1.395	0.1631	NÃO	NÃO

Tabela nº 36 - Alterações do CD4 verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	n1	n2	U	z	Probab	0.05	0.01
<b>G x P</b>	Todos	30	30	498	0.710	0.4779	NÃO	NÃO
<b>G x TC</b>	Todos	30	30	591.5	2.092	0.0364	SIM	NÃO
<b>P x TC</b>	Todos	30	30	540.5	1.338	0.1809	NÃO	NÃO

Figura nº 11 - Valores do CD4 nos idosos do grupo G antes e após a intervenção

CD4/ $\mu$ l

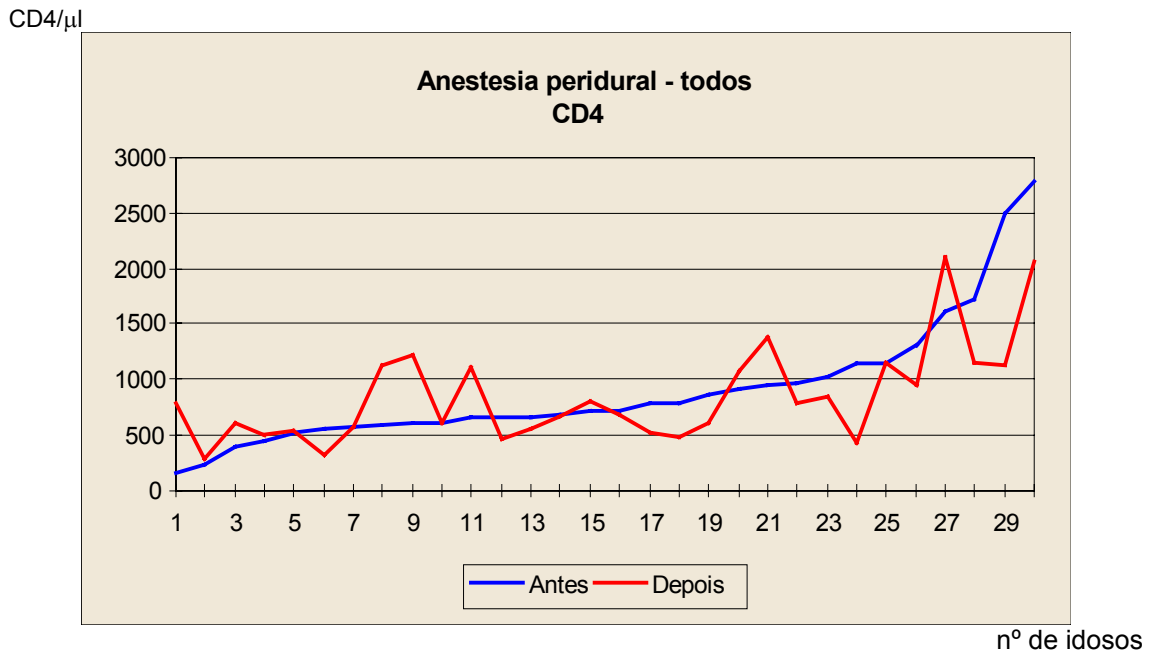


nº de idosos

Para todos os idosos do grupo G, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05, para os valores CD4.

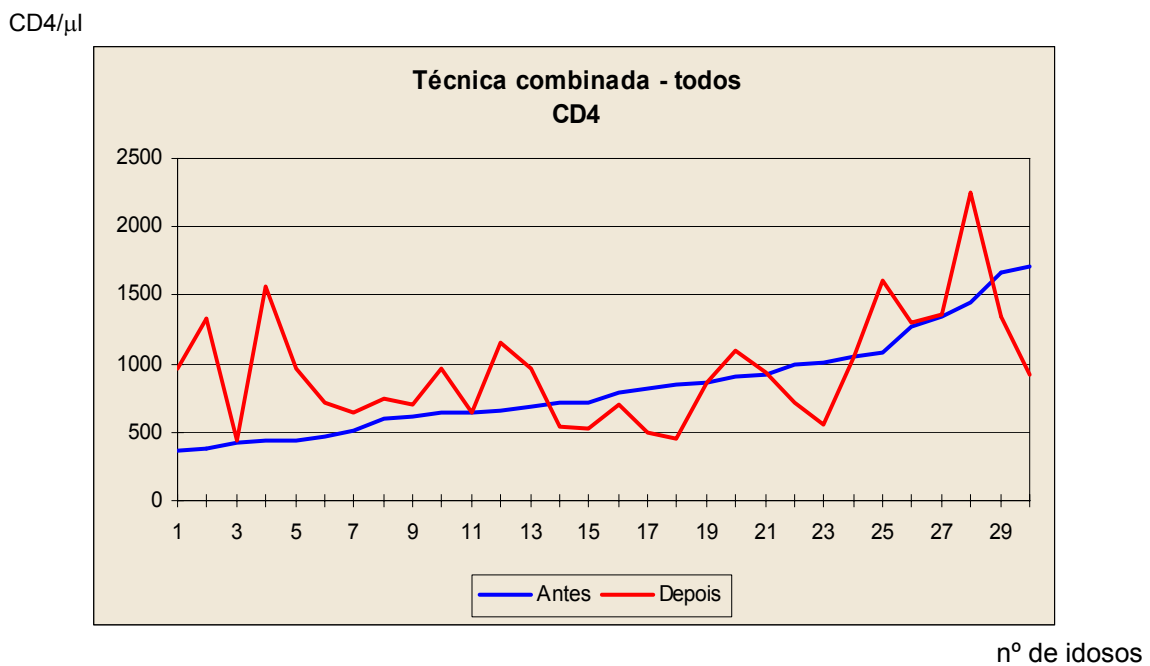
Para o grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05 para o CD4.

Figura nº 12 - Valores do CD4 nos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção



Para o grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05 para o CD4.

Figura nº13 - Valores do CD4 nos idosos do grupo TC, antes e pós-intervenção



Na comparação entre as técnicas G e P pode-se afirmar que não há diferença nas medidas realizadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

No entanto, entre os grupos G e TC, há diferença nas alterações observadas para o nível de significância de 0,05, mas não ao nível de significância de 0,01.

Nos grupos e P e TC não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

## CD8

Tabela nº 37 - Alterações do CD8 por grupos de intervenção

<b>Grupo</b>	<b>Wilcoxon</b>	<b>N</b>	<b>T</b>	<b>Z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G</b>	Todos	29	283.5	1.427	0.1535	NÃO	NÃO
<b>P</b>	Todos	30	215	-0.360	0.6406	NÃO	NÃO
<b>TC</b>	Todos	28	214	0.250	0.8022	NÃO	NÃO

Tabela nº 38 - Alterações do CD8 verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

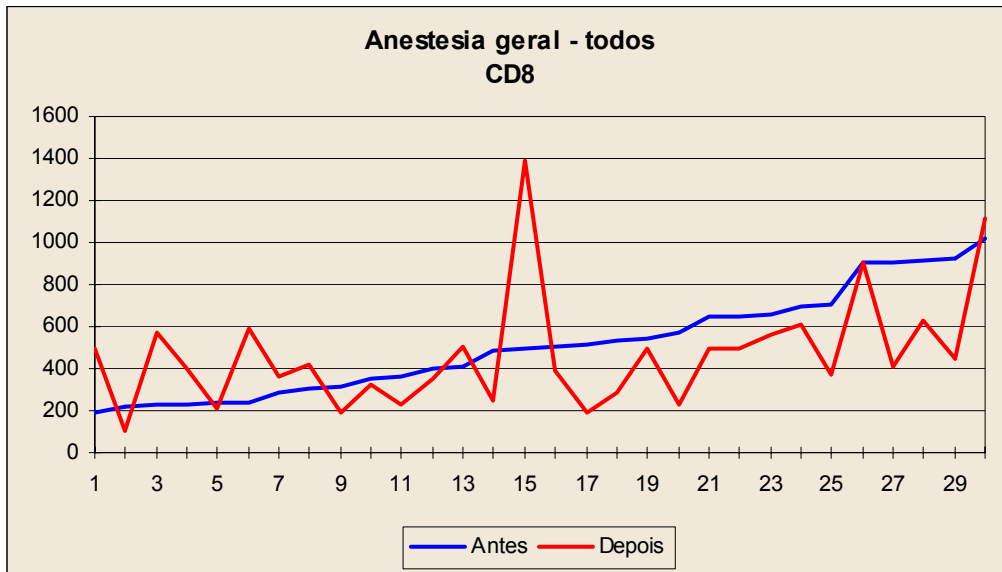
<b>Grupos</b>	<b>Mann-Whitney</b>	<b>n1</b>	<b>n2</b>	<b>U</b>	<b>Z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G x P</b>	Todos	30	30	521	1.050	0.2939	NÃO	NÃO
<b>G x TC</b>	Todos	30	30	534.5	1.249	0.2116	NÃO	NÃO
<b>P x TC</b>	Todos	30	30	460.5	0.155	0.8766	NÃO	NÃO

Para todos os idosos do grupo G, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05, para os valores de CD8.



Figura nº 14 - Valores de CD8 nos idosos do grupo G, antes e pós-intervenção

CD8/ $\mu$ l

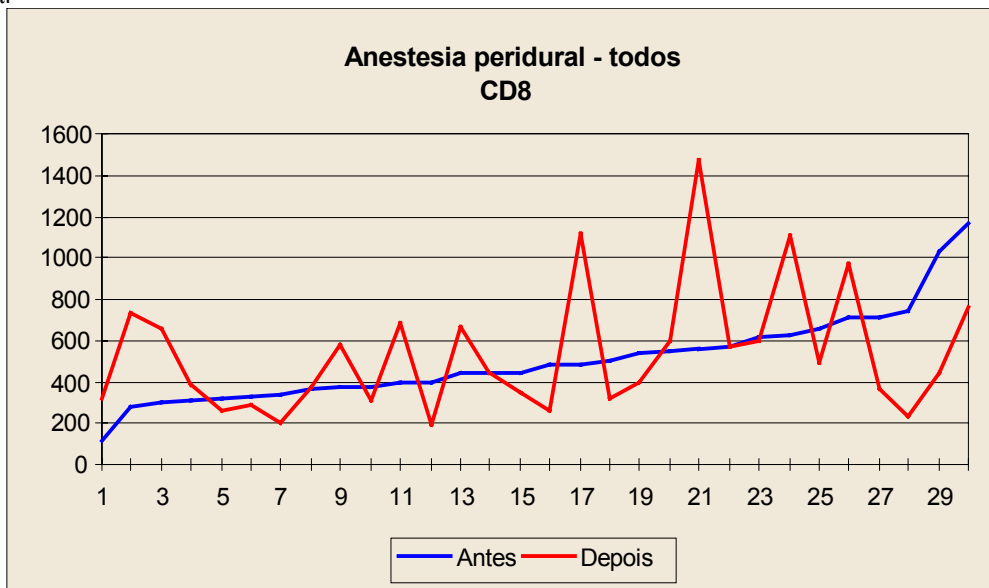


nº de idosos

Para o grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 15 - Valores do CD8 nos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção

CD8/ $\mu$ l

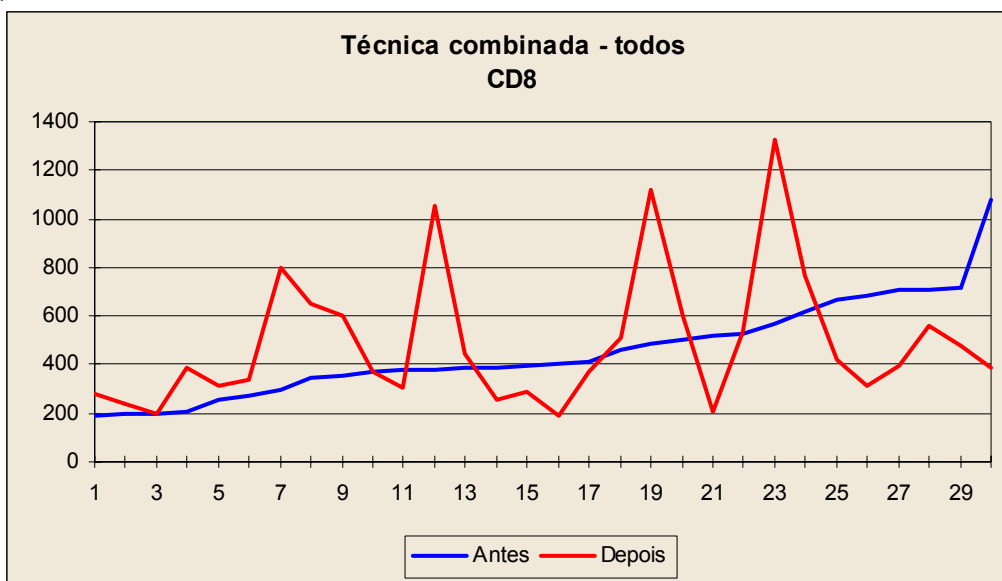


nº de idosos

Para este grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº16 - Valores do CD8 nos idosos do grupo TC antes e pós-intervenção

CD8/ $\mu$ l



nºs de idosos

Na comparação entre as técnicas G e P conclui-se que não há diferença nas medidas realizadas para CD8, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Entre as técnicas G e TC conclui-se que não há diferença nas medidas realizadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Na comparação entre as técnicas: P e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

## INTERLEUCINA<sub>1</sub> BETA

Tabela nº 39 - Alterações da interleucina<sub>1</sub> beta por grupos de intervenção

<b>Grupo</b>	<b>Wilcoxon</b>	<b>N</b>	<b>T</b>	<b>Z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G</b>	<b>Todos</b>	28	239	0.820	0.4123	NÃO	NÃO
<b>P</b>	<b>Todos</b>	26	245	1.765	0.0775	NÃO	NÃO
<b>TC</b>	<b>Todos</b>	26	202	0.673	0.5009	NÃO	NÃO

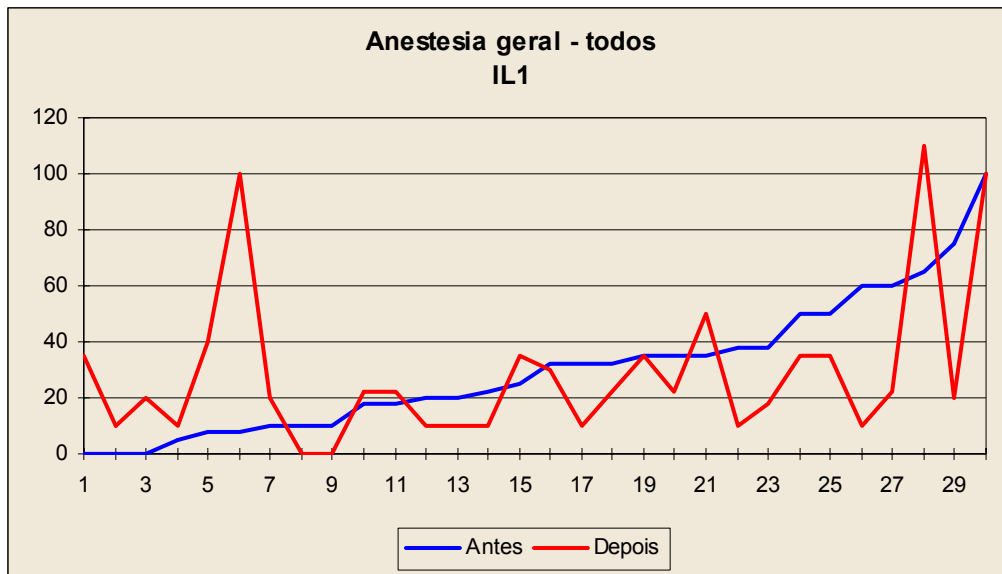
Tabela nº 40 - Alterações dos valores de interleucina<sub>1</sub> verificadas pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

<b>Grupos</b>	<b>Mann-Whitney</b>	<b>n1</b>	<b>n2</b>	<b>U</b>	<b>Z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G x P</b>	<b>Todos</b>	30	30	572	1.796	0.0724	NÃO	NÃO
<b>G x TC</b>	<b>Todos</b>	30	30	527	1.131	0.2581	NÃO	NÃO
<b>P x TC</b>	<b>Todos</b>	30	30	514	0.939	0.3478	NÃO	NÃO

Para todos os idosos do grupo G, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas de interleucina<sub>1</sub> beta antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 17 - Valores da interleucina<sub>1</sub> beta nos idosos do grupo G, antes e pós-intervenção

Pg/ml

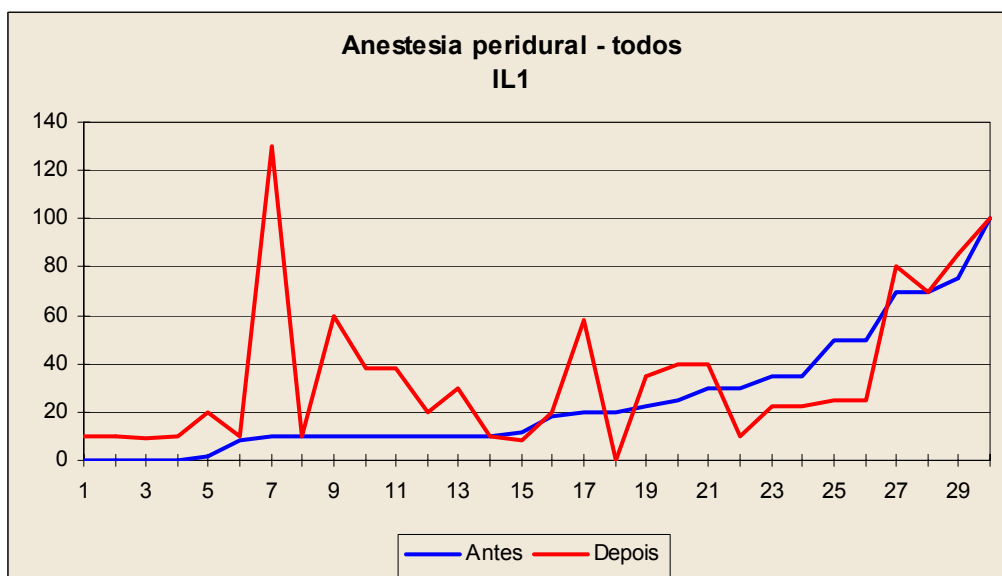


nº de idosos

No grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05, para Interleucina<sub>1</sub>.

Figura nº18 - Valores da interleucina<sub>1</sub> beta nos idosos do grupo P, antes e pós-intervenção

Pg/ml

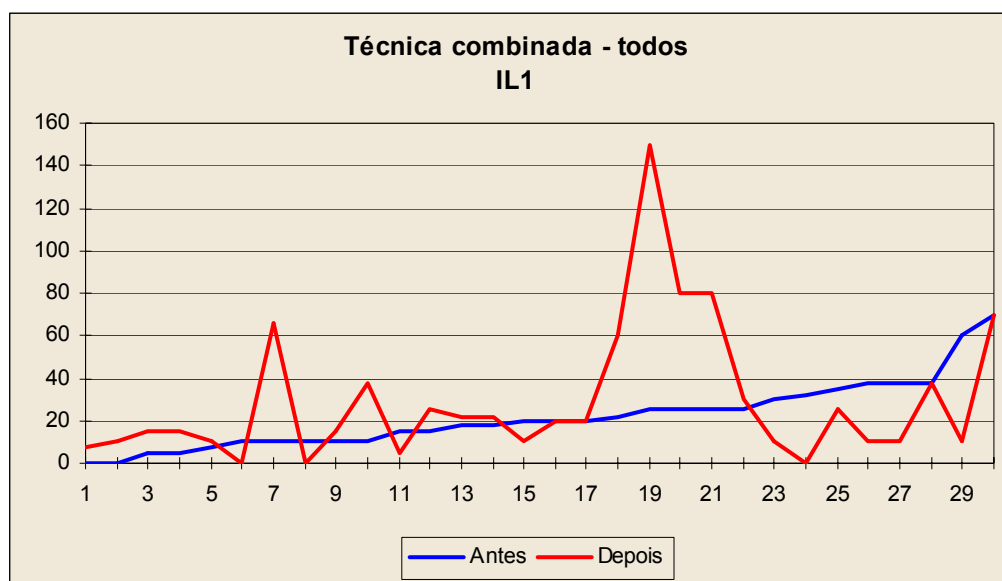


nº de idosos

No grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05 para Interleucina<sub>1</sub>.

Figura nº19 - Valores da interleucina<sub>1</sub> beta nos idosos do grupo TC, antes e pós-intervenção

Pg/ml



nº de idosos

Entre as técnicas G e P, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Entre as técnicas G e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Entre as técnicas P e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas para os grupos P e C, mesmo ao nível de significância de 0,05.

## INTERLEUCINA<sub>2</sub>

Tabela nº 41 - Alterações da interleucina<sub>2</sub> por grupo de intervenção

Grupo	Wilcoxon	N	T	z	Probab	0.05	0.01
<b>G</b>	Todos	5	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
<b>P</b>	Todos	1	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D	#N/D
<b>TC</b>	Todos	11	40	0.622	0.5337	NÃO	NÃO

Tabela nº 42 - Alterações dos valores de interleucina<sub>2</sub> verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	n1	n2	U	Z	Probab	0.05	0.01
<b>G x P</b>	Todos	30	30	478	0.414	0.6789	NÃO	NÃO
<b>G x TC</b>	Todos	30	30	476	0.377	0.7062	NÃO	NÃO
<b>P x TC</b>	Todos	30	30	455	0.067	0.9470	NÃO	NÃO

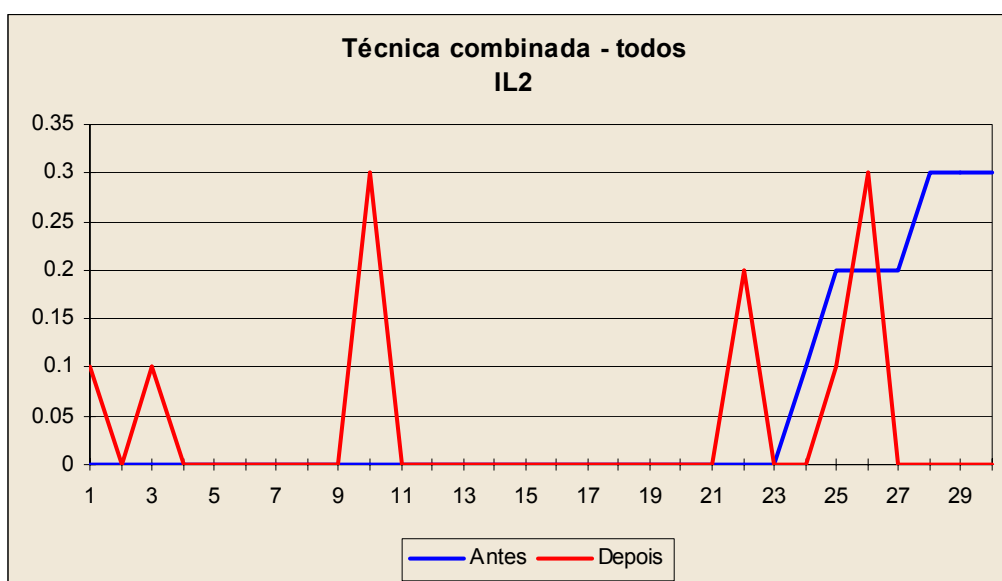
No Grupo G, devido a haver apenas 5 observações em que a variação dos valores de interleucina<sub>2</sub>, entre o pré-anestésico e o pós-anestésico sendo este diferente de 0, não foi possível realizar teste estatístico.

No Grupo P, devido a haver apenas 1 observação em que a variação dos valores de interleucina<sub>2</sub> entre o pré-operatório e o pós-operatório foi diferente de 0, não foi possível realizar teste estatístico.

No entanto, no grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 20 - Valores da interleucina<sub>2</sub> nos idosos do grupo TC, antes e pós-intervenção

Pg/ml



nº de idosos

Na comparação entre os grupos G e P, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas para os grupos G e P, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Na comparação entre os grupos G e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Na comparação entre os grupos P e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas para os grupos P e C, mesmo ao nível de significância de 0,05.

## EXPLOSÃO RESPIRATÓRIA

Tabela nº 43 - Alterações da explosão respiratória por grupos de intervenção

Grupo	Wilcoxon	N	T	z	Probab	0.05	0.01
G	Todos	26	240	1.638	0.1014	NÃO	NÃO
P	Todos	30	336	2.129	0.0333	SIM	NÃO
TC	Todos	27	294	2.523	0.0116	SIM	NÃO

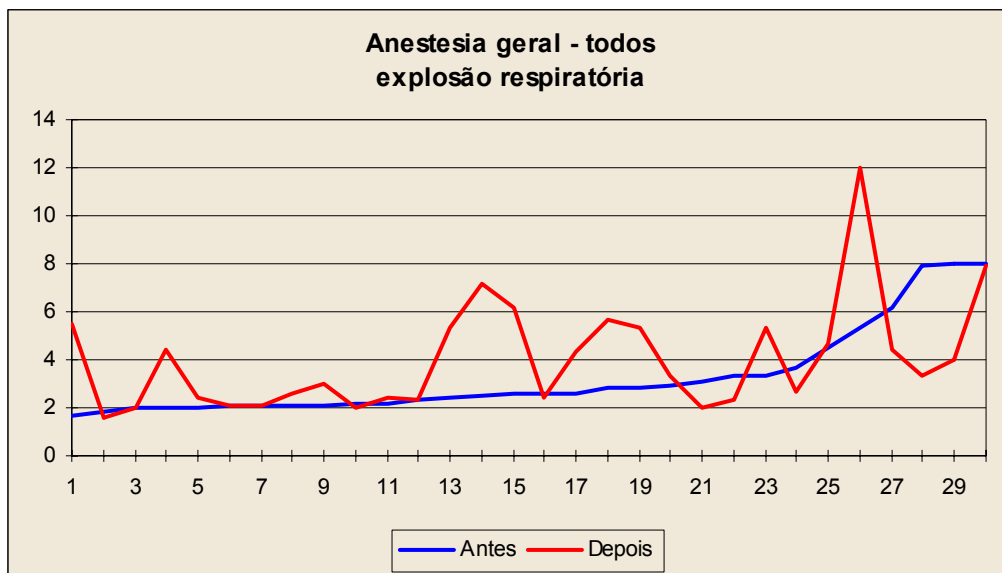
Tabela nº 44 - Alterações da explosão respiratória verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	n1	n2	U	z	Probab	0.05	0.01
G x P	Todos	30	30	489	0.577	0.5642	NÃO	NÃO
G x TC	Todos	30	30	491	0.606	0.5444	NÃO	NÃO
P x TC	Todos	30	30	453	0.037	0.9705	NÃO	NÃO

No Grupo G, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 21 - Valores da explosão respiratória nos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção

IE

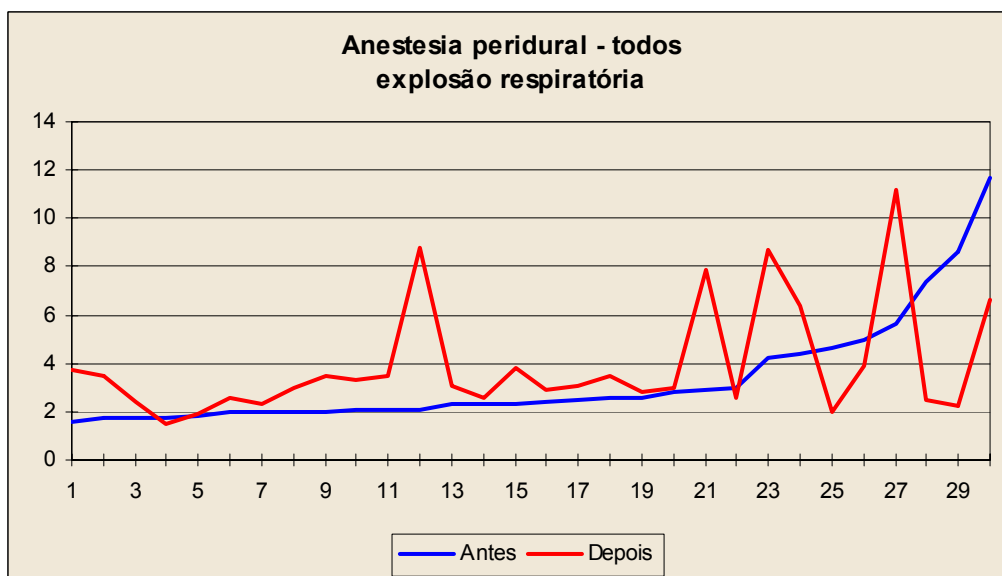


nº de idosos

No grupo P, pode-se concluir que há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção ao nível de significância de 0,05 mas não ao nível de significância de 0,01.

Figura nº22 - Valores da ER nos idosos do no grupo P, antes e pós-intervenção

IE



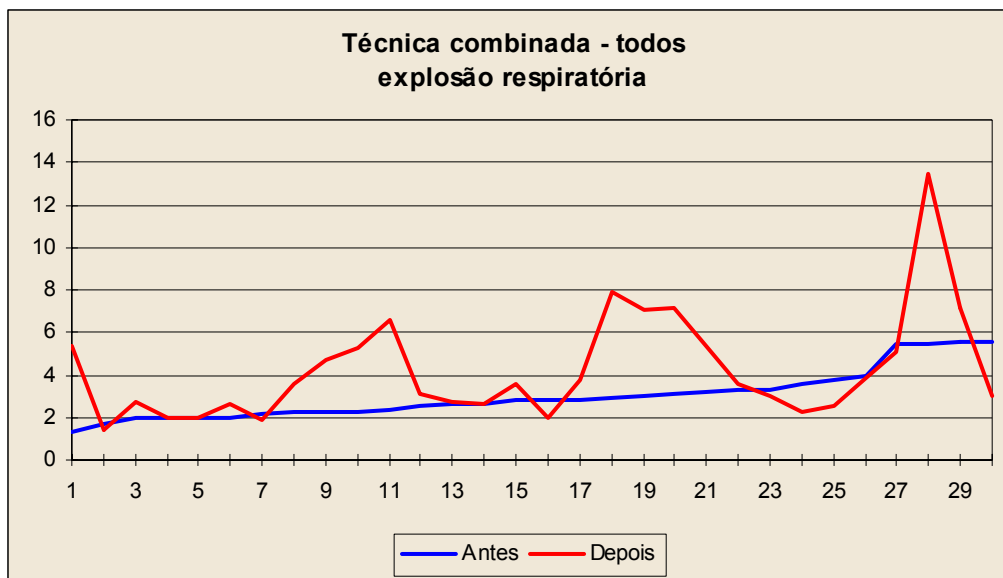
nº de idosos



No grupo TC, pode-se concluir que há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, ao nível de significância de 0,05, mas não ao nível de significância de 0,01.

Figura nº 23 - Valores da explosão respiratória nos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção

IE



nº de idosos

Entre as técnicas G e P, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Entre os grupos G e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Entre os grupos P e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

## RADICAIS LIVRES

Tabela nº 45 - Alterações de radicais livres por grupo de intervenção

<b>Grupo</b>	<b>Wilcoxon</b>	<b>N</b>	<b>T</b>	<b>z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G</b>	Todos	30	291	1.203	0.2289	NÃO	NÃO
	Até 400.000CPM	13	84	2.691	0.0071	SIM	SIM
	Acima 400.000 CPM	17	85	0.402	0.6874	NÃO	NÃO
<b>P</b>	Todos	30	251	0.381	0.3516	NÃO	NÃO
	Até 400.000 CPM	14	87	2.166	0.0152	SIM	NÃO
	Acima 400.000 CPM	16	93	1.293	0.0980	NÃO	NÃO
<b>TC</b>	Todos	30	277	0.915	0.3600	NÃO	NÃO
	Até 400.000 CPM	17	124.5	2.272	0.0231	SIM	NÃO
	Acima 400.000 CPM	13	57.5	0.839	0.4017	NÃO	NÃO

Tabela nº 46 - Alterações de radicais livres verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

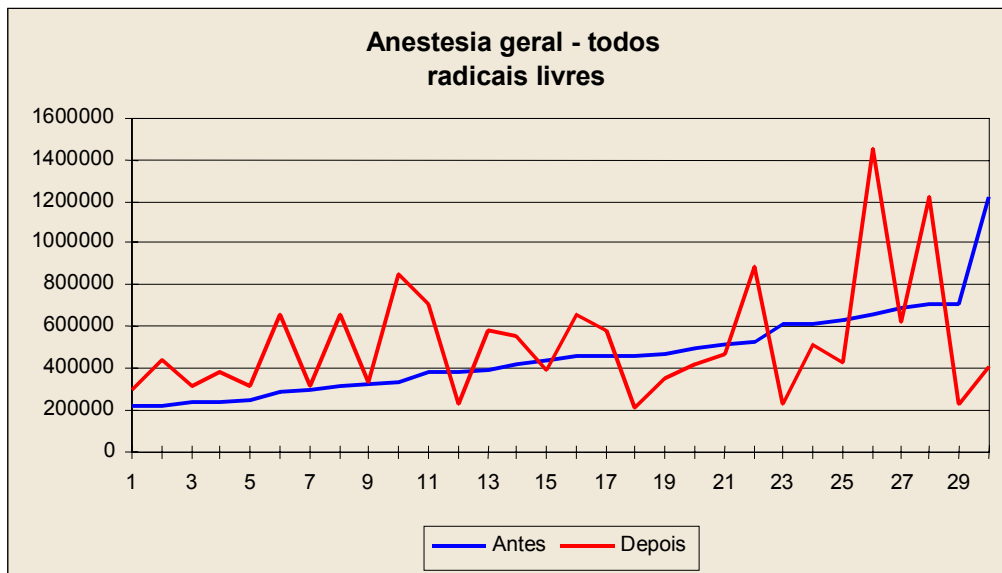
<b>Grupos</b>	<b>Mann-Whitney</b>	<b>n1</b>	<b>n2</b>	<b>U</b>	<b>z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G x P</b>	Todos	30	30	508	0.857	0.3912	NÃO	NÃO
	Até 400.000 CPM	13	14	115	1.165	0.2442	NÃO	NÃO
	Acima 400.000 CPM	16	17	132	-0.14	0.8854	NÃO	NÃO
<b>G x TC</b>	Todos	30	30	478.5	0.421	0.6735	NÃO	NÃO
	Até 400.000 CPM	13	17	134	0.984	0.3254	NÃO	NÃO
	Acima 400.000 CPM	13	17	106	-0.19	0.8506	NÃO	NÃO
<b>P x TC</b>	Todos	30	30	496	0.68	0.4965	NÃO	NÃO
	Até 400.000 CPM	14	17	109	-0.4	0.6914	NÃO	NÃO
	Acima 400.000 CPM	13	16	106.5	0.11	0.9127	NÃO	NÃO

Para todos os idosos do grupo G, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Sendo que o grupo G foi subdividido, de acordo com os valores de Radicais Livres no pré-anestésico, em dois: um abaixo de 400.000 CPM e outro acima deste valor. Para o subgrupo abaixo de 400.000 CPM, pode-se concluir que há alteração, mesmo ao nível de significância de 0,01. Para o subgrupo acima de 400.000 CPM, contudo, pode-se concluir que não há esta alteração, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 24 - Valores de radicais livres no sangue de idosos do grupo G, antes e pós-intervenção

CPM

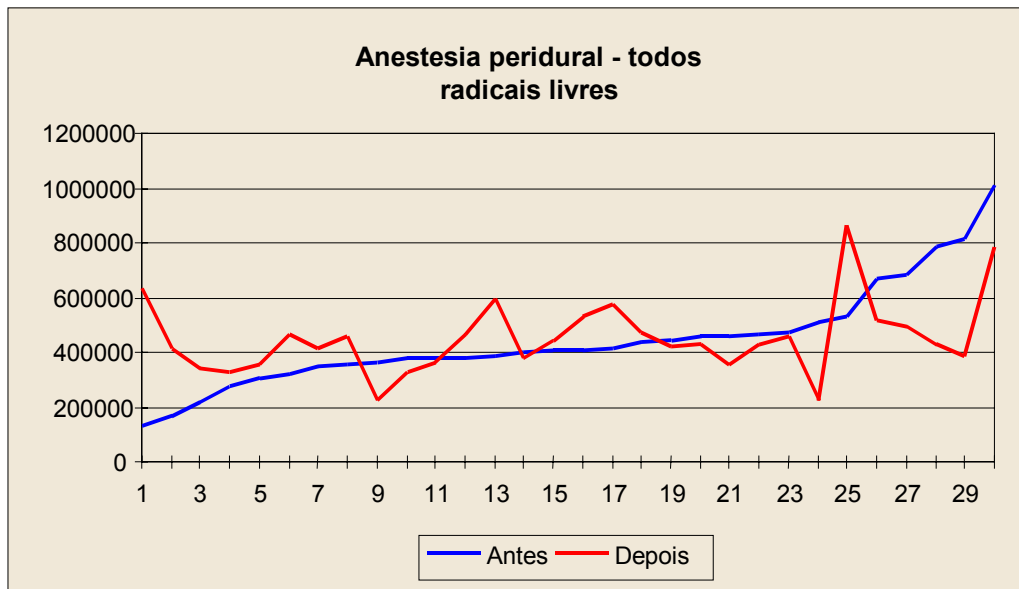


nº de idosos

Para o grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05. Para o subgrupo abaixo de 400.000 CPM, há alteração ao nível de significância de 0,05 mas não ao nível de significância de 0,01. Para o subgrupo acima de 400.000 CPM, não há alteração, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 25 - Valores de radicais livres no sangue de idosos do grupo P, antes e pós-intervenção

CPM

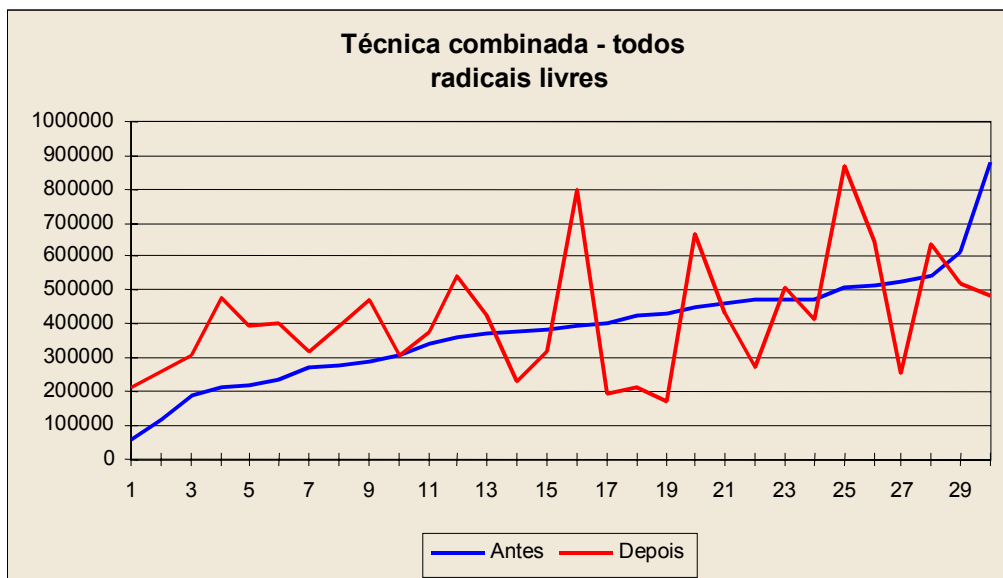


nº de idosos

Pelos resultados do grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05. Para o subgrupo abaixo de 400.000 CPM, há alteração ao nível de significância de 0,05, mas não ao nível de significância de 0,01. Para o subgrupo acima de 400.000 CPM, não há alteração, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 26 - Valores de radicais livres no sangue de idosos do grupo TC, antes e pós-intervenção

CPM



nº de idosos

Entre os grupos G e P, pode-se concluir que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05. O mesmo ocorre para os subgrupos formados como descrito acima.

Entre os grupos G e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05. O mesmo ocorre para os subgrupos formados como descrito acima.

Entre os grupos P e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05. O mesmo ocorre para os subgrupos formados como descrito acima.

## LIOPERÓXIDOS NAS HEMÁCIAS

Tabela nº47 - Alterações dos lipoperóxidos nas hemácias por grupos de intervenção

Grupo	Wilcoxon	N	T	z	Probab	0.05	0.01
G	Todos	29	271	1.157	0.2473	NÃO	NÃO
P	Todos	30	282	1.018	0.1544	NÃO	NÃO
TC	Todos	30	255	0.463	0.6435	NÃO	NÃO

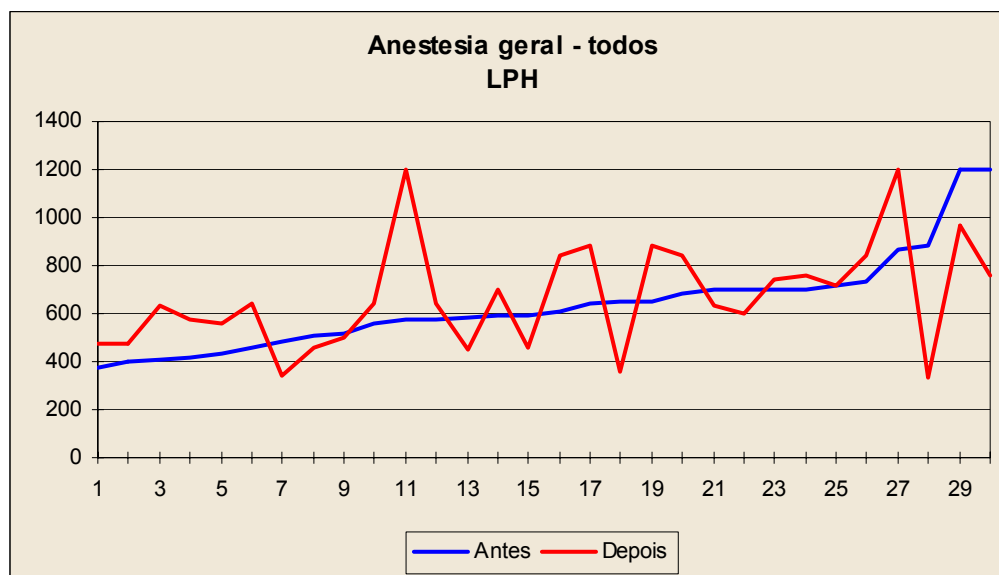
Tabela nº 48 - Alterações dos valores dos lipoperóxidos nas hemácias verificadas pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	n1	n2	U	z	Probab	0.05	0.01
<b>G x P</b>	Todos	30	30	458.5	0.126	0.9000	NÃO	NÃO
<b>G x TC</b>	Todos	30	30	525	1.109	0.2675	NÃO	NÃO
<b>P x TC</b>	Todos	30	30	521.5	1.057	0.2905	NÃO	NÃO

Para todos os idosos deste grupo G, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 27 - Valores dos lipoperóxidos nas hemácias dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção

nmol/gHb

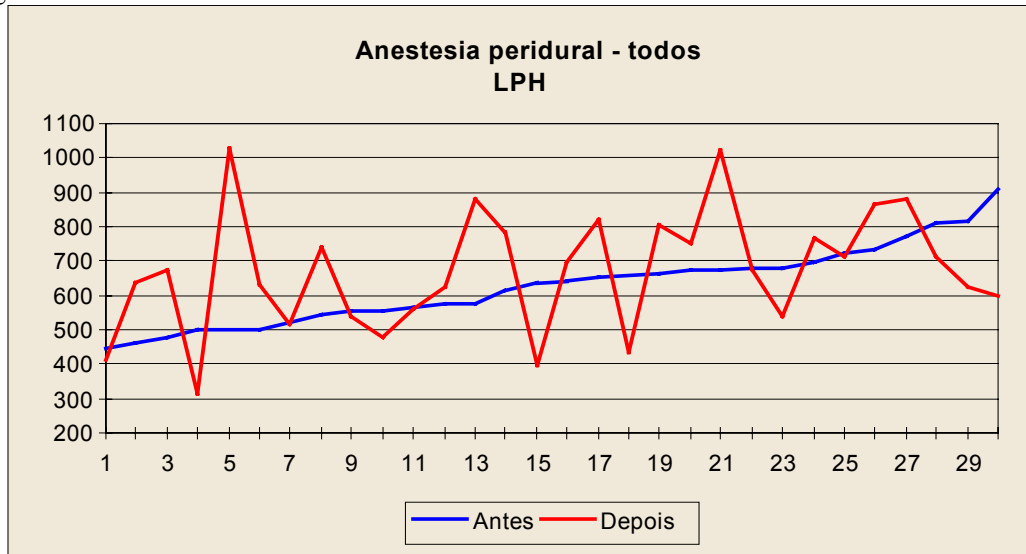


nº de idosos

No grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 28 - Valores dos lipoperóxidos nas hemácias dos idosos no grupo P, antes e pós-intervenção

nmol/gHb

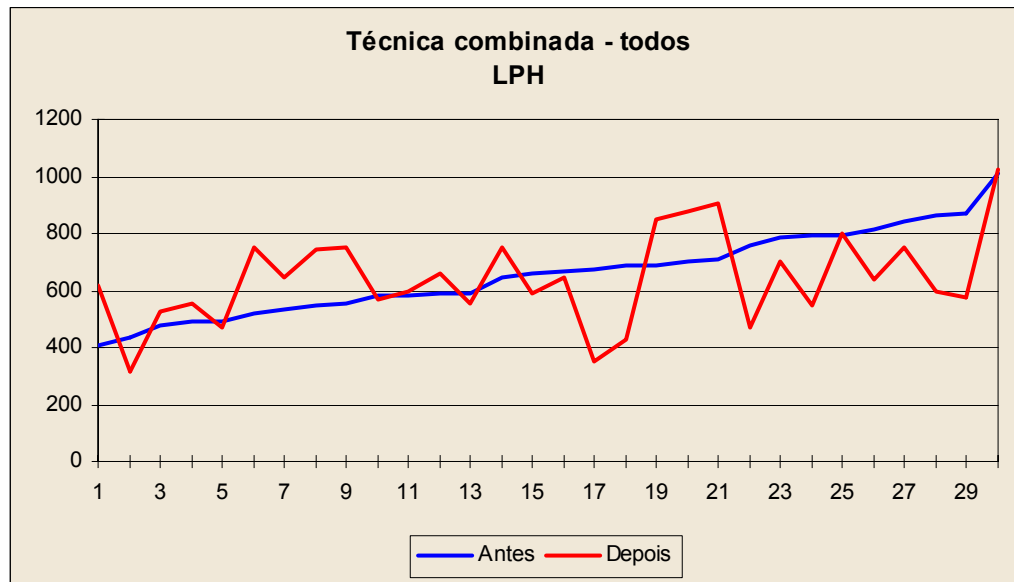


nº de idosos

No grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 29 - Valores dos lipoperóxidos nas hemácias dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção

nmol/gHb



nº de idosos

Pode-se concluir que não há diferença nas alterações observadas intergrupos mesmo ao nível de significância de 0,05.

Tabela nº 49 - Alterações do cortisol por grupos de intervenção

Grupo	Wilcoxon	N	T	z	Probab	0.05	0.01
G	Todos	30	379	3.013	0.0026	SIM	SIM
P	Todos	30	240.5	0.165	0.8693	NÃO	NÃO
TC	Todos	28	245	0.956	0.3389	NÃO	NÃO

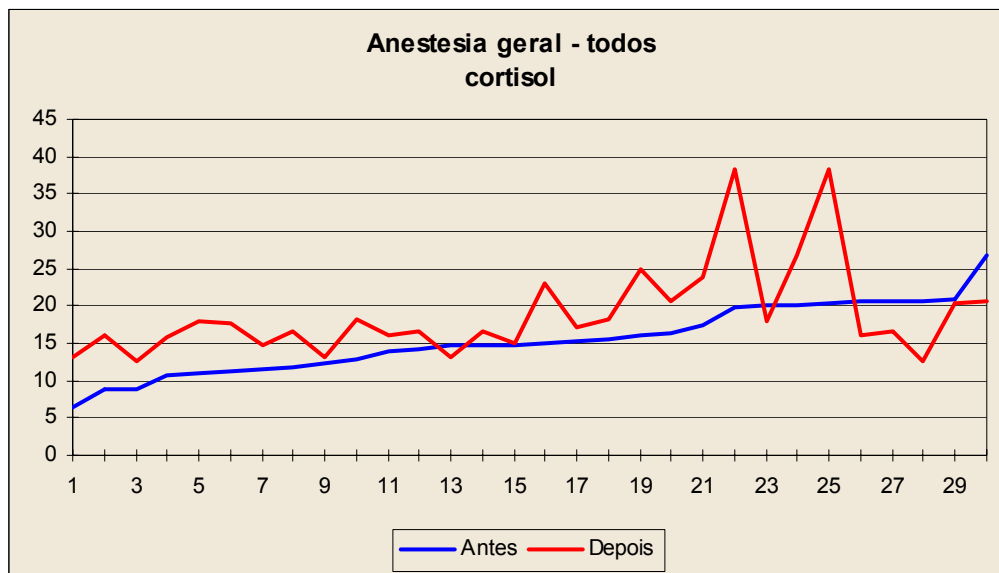
Tabela nº 50 - Alterações do cortisol verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	n1	n2	U	z	Probab	0.05	0.01
G x P	Todos	30	30	582.5	1.959	0.0501	NÃO	NÃO
G x TC	Todos	30	30	562.5	1.663	0.0963	NÃO	NÃO
P x TC	Todos	30	30	496	0.680	0.4965	NÃO	NÃO

No grupo G, conclui-se que há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,01.

Figura nº 30 - Valores de cortisol dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção

Cortisol - µg/dl



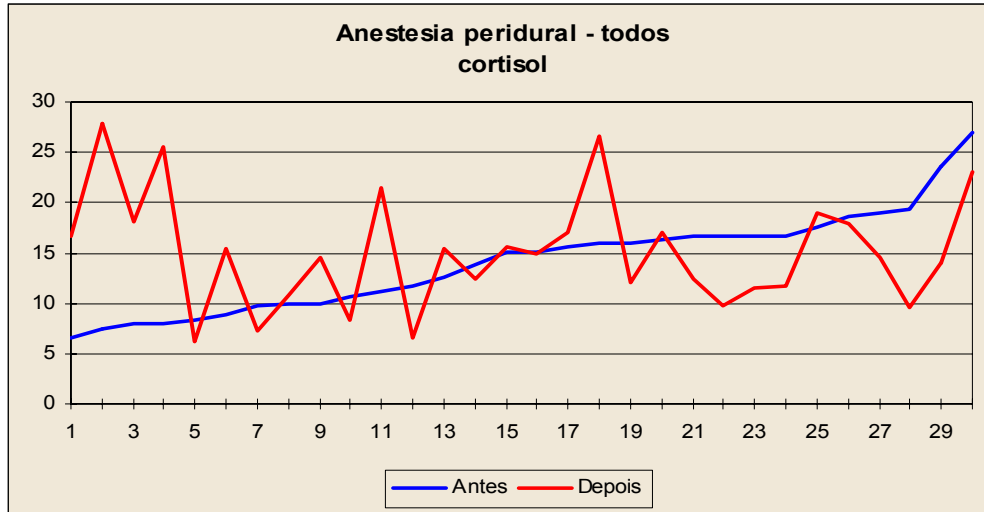
nº de idosos

No grupo P, conclui-se que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 31 - Valores de cortisol dos idosos no grupo P, antes e pós-intervenção

µg/dl



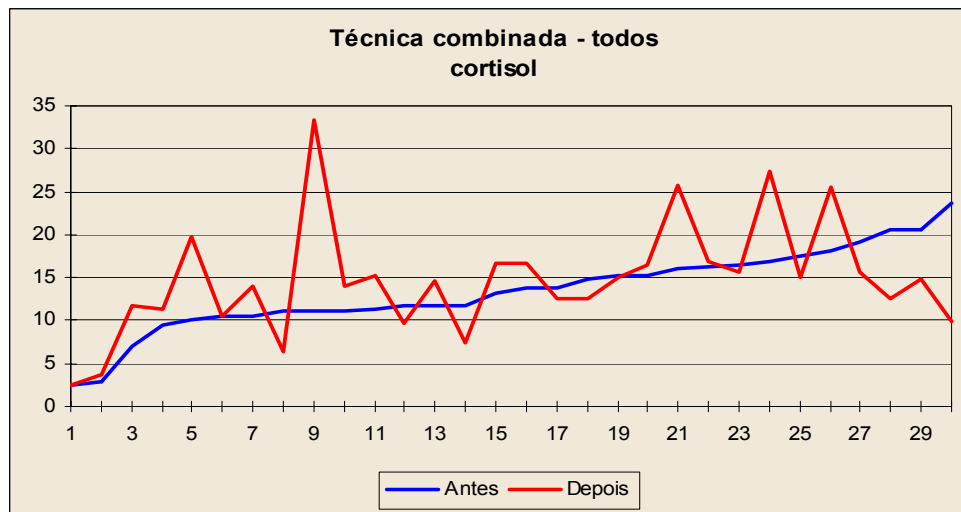


nº de idosos

No grupo TC, conclui-se que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 32 - Valores de cortisol dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção

µg/dl



nº de idosos

Entre os grupos G, P; G e TC e P e TC conclui-se que não há diferença nas alterações, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Tabela nº 51 - Alterações dos linfócitos B, por grupos de intervenção

Grupo	Wilcoxon	N	T	z	Probab	0.05	0.01
G	Todos	29	268	1.092	0.2748	NÃO	NÃO
P	Todos	29	235	0.378	0.7051	NÃO	NÃO

TC	Todos	29	222.5	0.108	0.9139	NÃO	NÃO
----	-------	----	-------	-------	--------	-----	-----

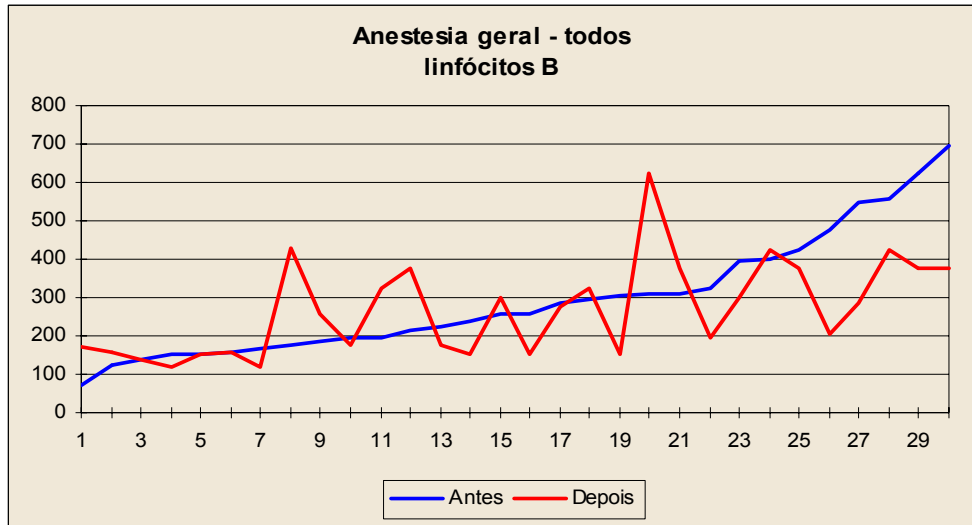
Tabela nº 52 - Alterações dos linfócitos B verificada pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	n1	n2	U	z	Probab	0.05	0.01
G x P	Todos	30	30	471	0.310	0.7562	NÃO	NÃO
G x TC	Todos	30	30	491.5	0.614	0.5395	NÃO	NÃO
P x TC	Todos	30	30	471	0.310	0.7562	NÃO	NÃO

Para todos os idosos deste grupo G, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 33 - Valores dos linfócitos B dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção

/ $\mu$ l

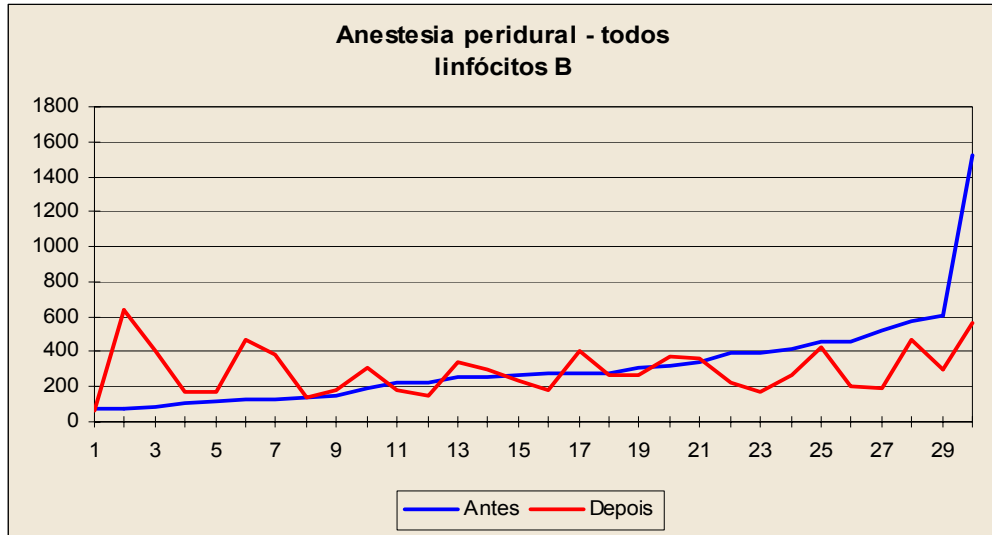


nº de idosos

Para o grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 34 - Valores dos linfócitos B dos idosos no grupo P, antes e pós-intervenção

/ $\mu$ l

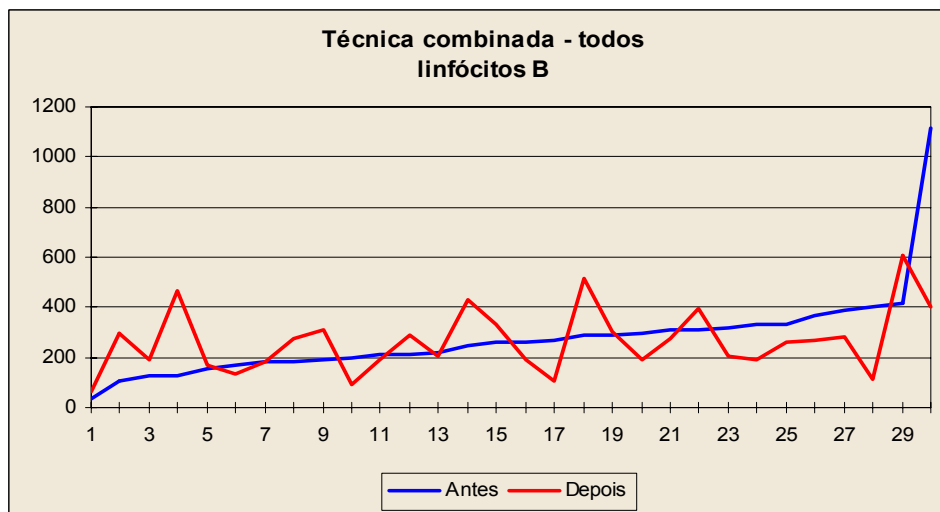


nº de idosos

Para o grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 35 - Valores dos linfócitos B dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção

/µl



nº de idosos

Entre os grupos G e P; G e TC; P e TC, conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Tabela nº 53 - Alterações dos linfócitos T por grupos de intervenção

Grupo	Wilcoxon	N	T	z	Probab	0.05	0.01
G	Todos	29	309	1.979	0.0479	SIM	NÃO
P	Todos	29	220	0.054	0.9569	NÃO	NÃO

TC	Todos	29	283	1.416	0.1567	NÃO	NÃO
----	-------	----	-----	-------	--------	-----	-----

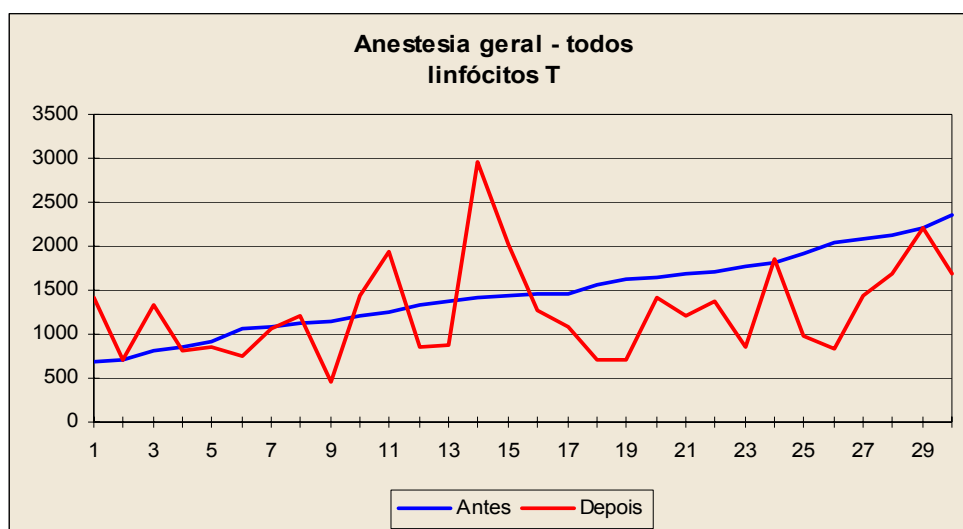
Tabela nº 54 - Alterações dos linfócitos T, verificadas pelas diferenças entre os três grupos de intervenção

Grupos	Mann-Whitney	n1	n2	U	z	Probab	0.05	0.01
G x P	Todos	30	30	560	1.626	0.1039	NÃO	NÃO
G x TC	Todos	30	30	612	2.388	0.0170	SIM	NÃO
P x TC	Todos	30	30	514	0.946	0.3440	NÃO	NÃO

Para os idosos do grupo G, pode-se concluir que há alteração dos Linfócitos T entre as medidas realizadas antes e após a intervenção ao nível de significância de 0,05 mas não ao nível de significância de 0,01.

Figura nº 36 - Valores dos linfócitos T dos idosos no grupo G, antes e pós-intervenção

/ $\mu$ l

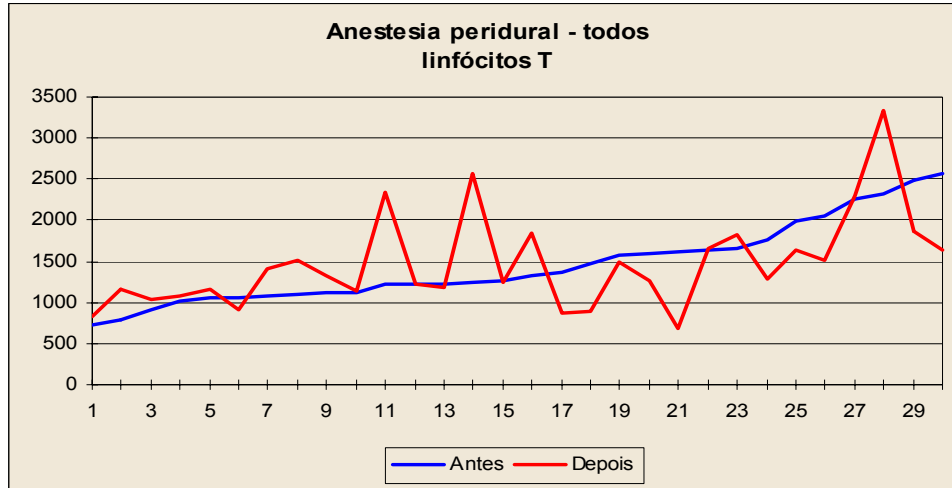


nº de idosos

Para os idosos do grupo P, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas dos Linfócitos T, realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 37 - Valores dos linfócitos T dos idosos no grupo P, antes e pós-intervenção

/ $\mu$ l

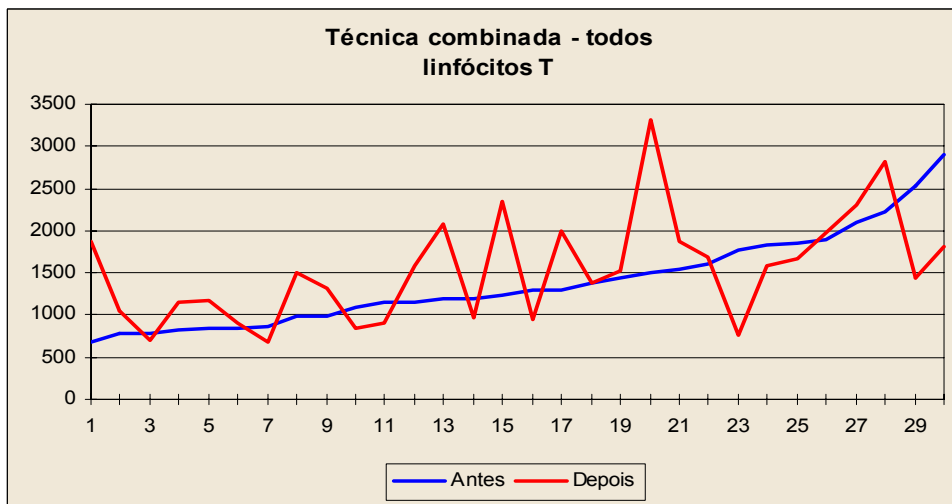


nº de idosos

Para os idosos do grupo TC, pode-se concluir que não há alteração entre as medidas LT, realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 38 - Valores dos linfócitos T dos idosos no grupo TC, antes e pós-intervenção

/μl



nº de idosos

Entre os grupos G e TC, conclui-se que há diferença nas alterações ao nível de significância de 0,05.

Entre os grupos G e P e P e TC conclui-se que não há diferença nas alterações observadas, ao nível de significância de 0,05 nem 0,01.

### 6.3 - Correlações

As correlações entre o aumento do cortisol plasmático e variações nos radicais livres, foram realizadas para evidenciar se o estresse gerado pela dor, trauma tissular ou pela própria anestesia, alteraria os valores LPH, ER e Quimioluminescência nos grupos G, P e TC.

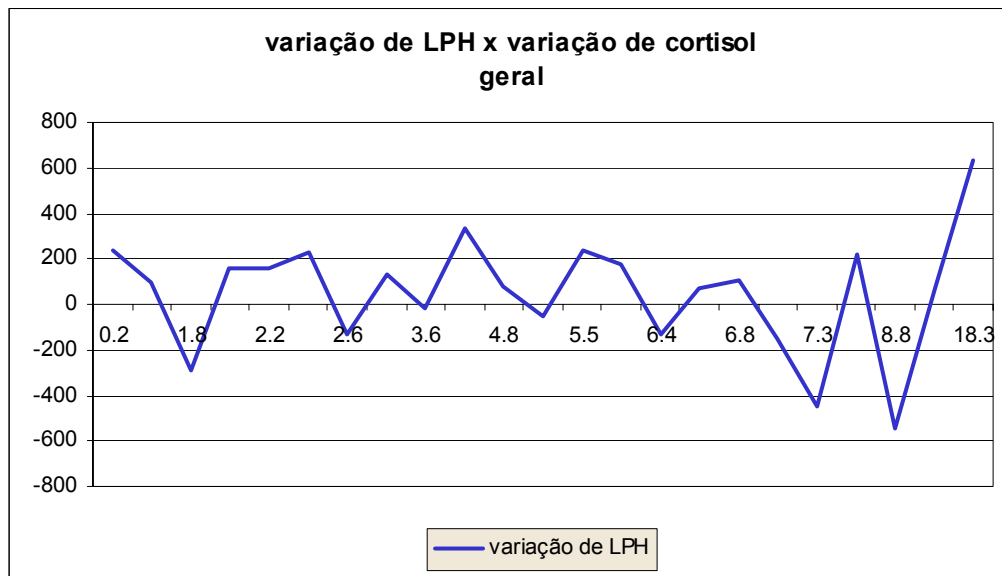
As correlações entre o aumento dos radicais livres e as alterações de IL1 beta, IL2 CD4, LT, LB nos grupos G, P e TC.

Tabela nº 55 - Correlação entre o aumento de cortisol nos grupos G, P e TC e a formação de radicais livres

<b>Grupo</b>	<b>Kendall</b>	<b>N</b>	<b><math>\tau</math></b>	<b>z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G</b>	<b>Cortisol x LPH</b>	23	-0.134387	-0.898	0.8154	NÃO	NÃO
	Cortisol x RL	23	0.063241	0.423	0.3363	NÃO	NÃO
	<b>Cortisol x ER</b>	23	-0.047431	-0.317	0.6239	NÃO	NÃO
<b>P</b>	Cortisol x LPH	14	-0.076923	-0.383	0.6491	NÃO	NÃO
	Cortisol x RL	14	0.406593	2.026	0.0214	SIM	NÃO
	Cortisol x ER	14	0.406593	2.026	0.0214	SIM	NÃO
<b>TC</b>	Cortisol x LPH	16	-0.400000	-2.161	0.9846	NÃO	NÃO
	Cortisol x RL	16	0.000000	0.000	0.5000	NÃO	NÃO
	Cortisol x ER	16	0.258333	1.396	0.0814	NÃO	NÃO

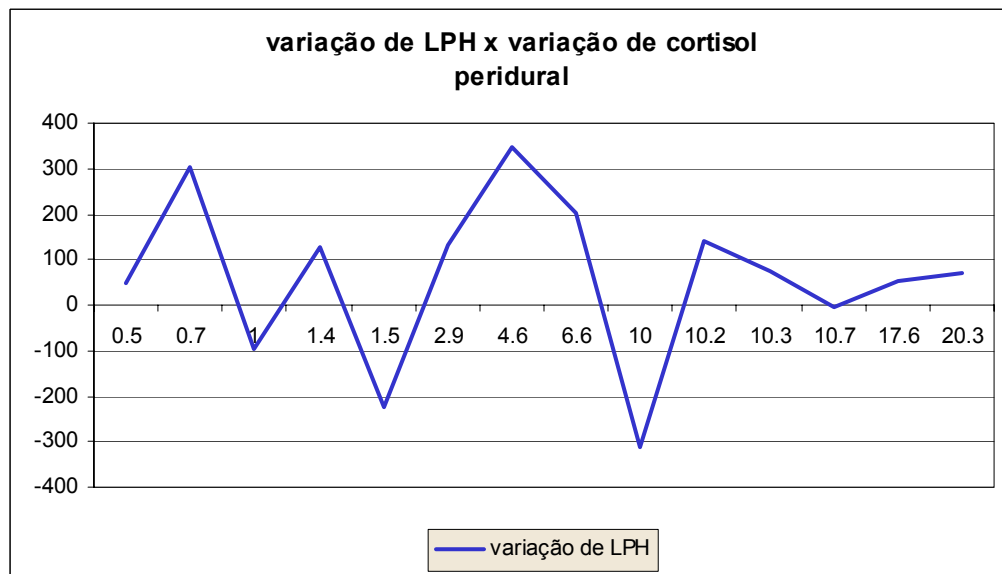
Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de LPH os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 39 - Variação do LPH e do cortisol, no grupo G



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de LPH para este grupo, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 40 - Variação do LPH e do cortisol, no grupo P



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de LPH para este grupo, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura n.º 41 - Variação do LPH e de cortisol, no grupo TC

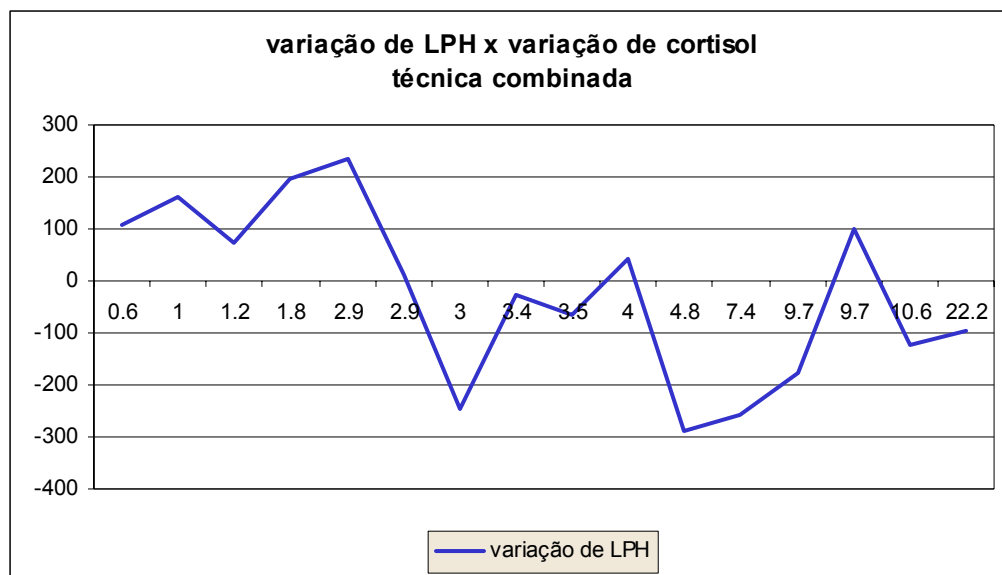
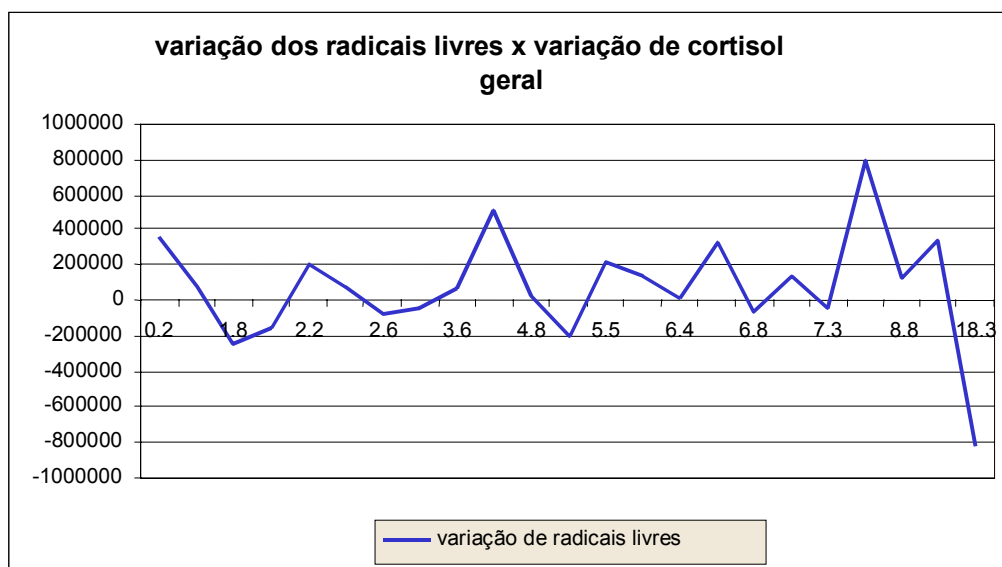


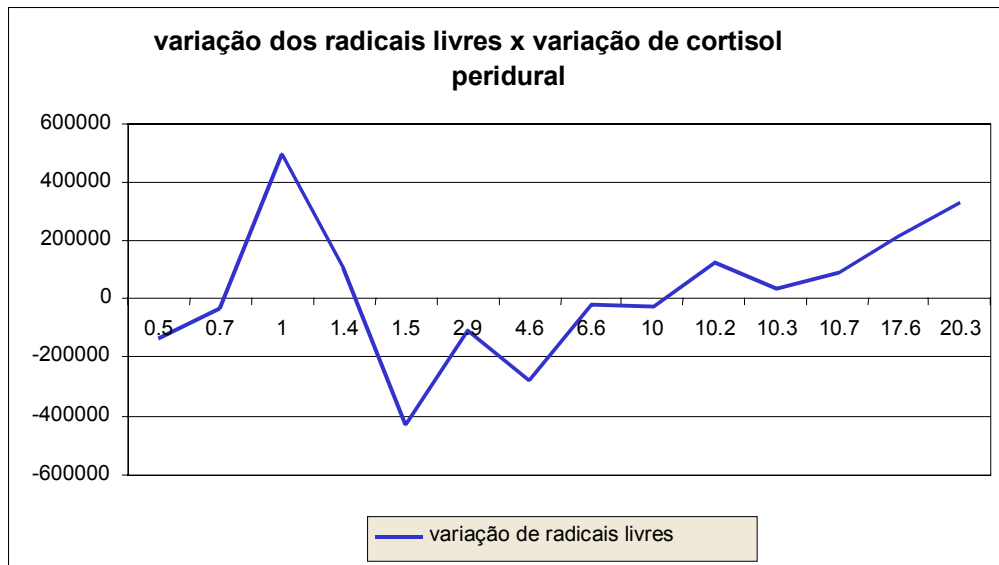
Figura n.º 42 - Variação dos radicais livres e variação do cortisol, no grupo G



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de quimioluminescência nos grupos G, mesmo ao nível de significância de 0,05.

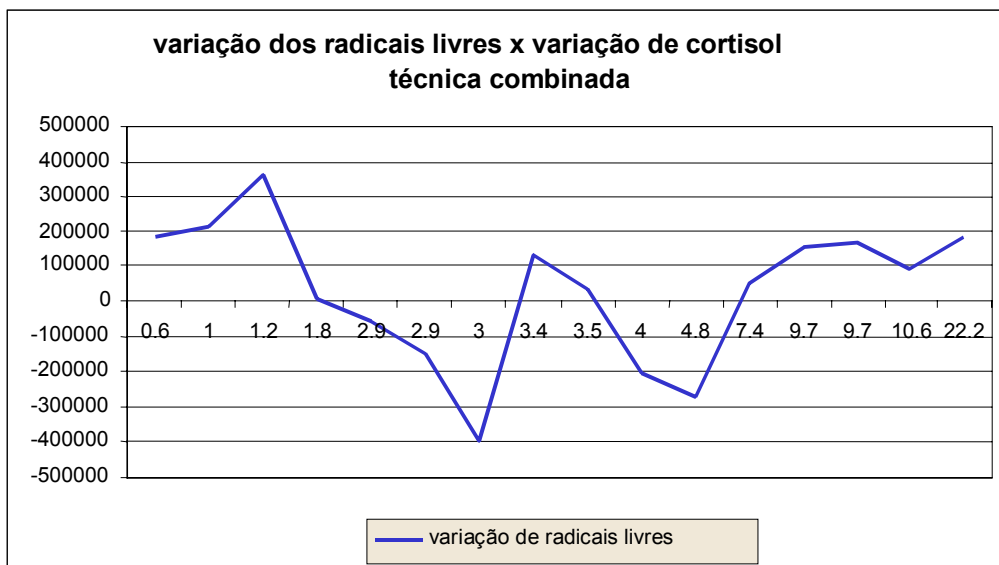
Figura n.º 43 - Variação dos radicais livres e variação do cortisol, no grupo P





Há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de quimioluminescência para o grupo P, ao nível de significância de 0,05 mas não há ao nível de significância 0,01.

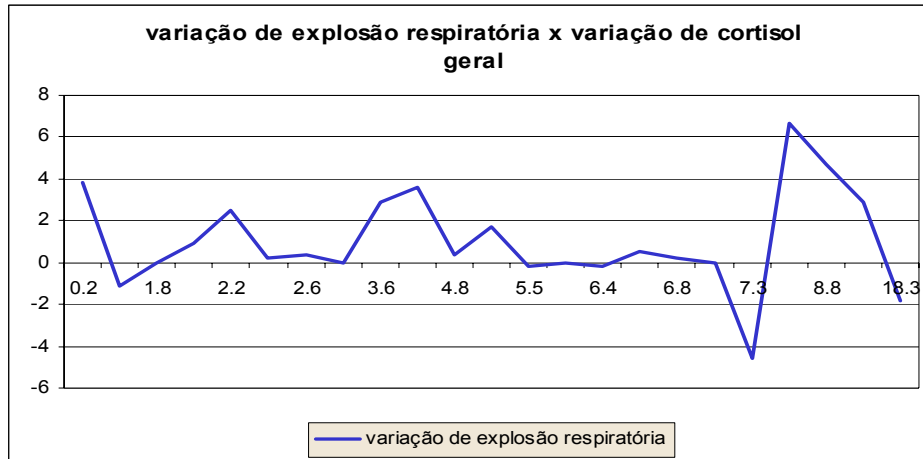
Figura nº 44 - Variação dos radicais livres e variação do cortisol, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de radicais livres para o grupo TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

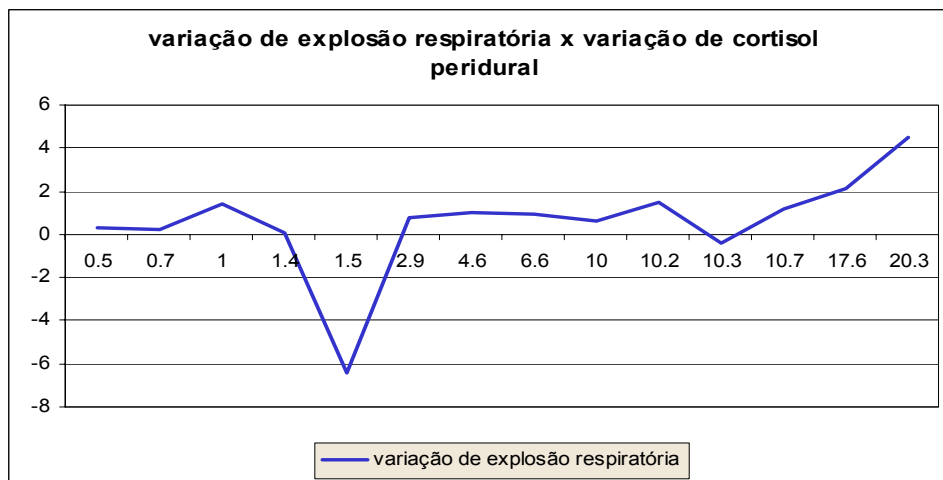
Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de ER para o grupo G, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 45 - Variação da explosão respiratória e do cortisol, no grupo G



Há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de ER, para o grupo P, ao nível de significância de 0,05 mas não há ao nível de significância 0,01.

Figura nº 46 - Variação da explosão respiratória e a variação do cortisol, no grupo P



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de cortisol e crescimento de ER para este grupo, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 47 - Variação da explosão respiratória e a variação do cortisol, no grupo TC

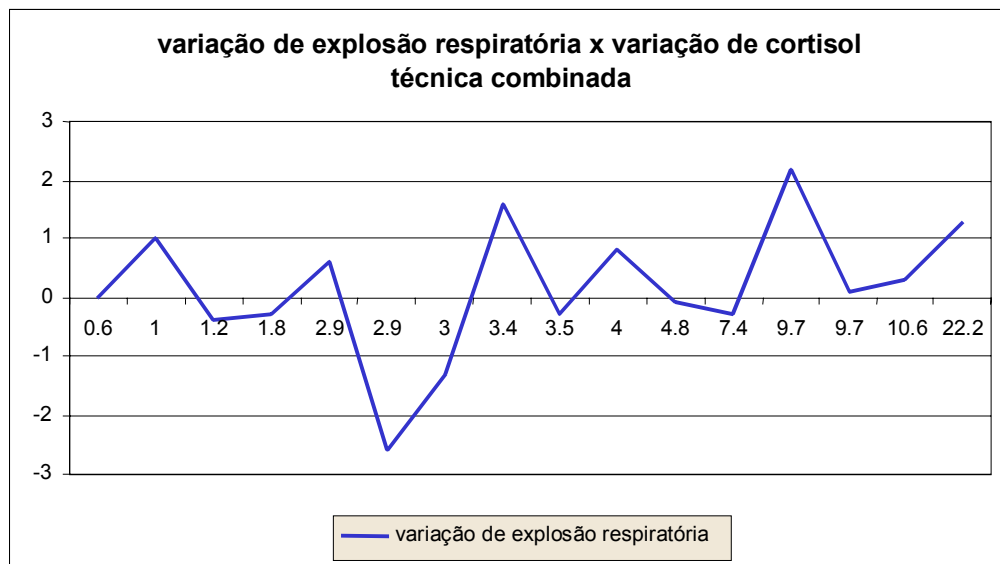


Tabela nº 56 - Correlação entre aumento de LPH e decréscimos de interleucina<sub>1</sub>, interleucina<sub>2</sub>, CD4, CD8, linfócitos T e linfócitos B são os grupos G, P e TC.

<b>Grupo</b>	<b>Kendall</b>	<b>N</b>	<b><math>\tau</math></b>	<b>Z</b>	<b>Probab</b>	<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>G</b>	LPH x IL1	18	0.006536	0.038	0.4848	NÃO	NÃO
	LPH x IL2	18	-0.084967	-0.492	0.6886	NÃO	NÃO
	LPH x CD4	18	0.091503	0.530	0.2981	NÃO	NÃO
	LPH x CD8	18	-0.215686	-1.250	0.8944	NÃO	NÃO
	LPH x LT	18	-0.058824	-0.341	0.6335	NÃO	NÃO
	LPH x LB	18	0.254984	1.478	0.0697	NÃO	NÃO
<b>P</b>	LPH x IL1	16	0.108333	0.585	0.2793	NÃO	NÃO
	LPH x IL2	16	-0.108333	-0.585	0.7207	NÃO	NÃO
	LPH x CD4	16	-0.066667	-0.360	0.6406	NÃO	NÃO
	LPH x CD8	16	-0.050000	-0.270	0.6064	NÃO	NÃO
	LPH x LT	16	0.033333	0.180	0.4286	NÃO	NÃO
	LPH x LB	16	-0.025000	-0.135	0.5537	NÃO	NÃO
<b>TC</b>	LPH x IL1	15	0.114286	0.594	0.2763	NÃO	NÃO
	LPH x IL2	15	0.038095	0.198	0.4215	NÃO	NÃO
	LPH x CD4	15	-0.133333	-0.693	0.7558	NÃO	NÃO
	LPH x CD8	15	-0.047619	-0.247	0.5975	NÃO	NÃO
	LPH x LT	15	0.085714	0.445	0.3282	NÃO	NÃO
	LPH x LB	15	-0.047619	-0.247	0.5975	NÃO	NÃO

Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de LPH e diminuição de IL1 para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 48 - Variação da interleucina<sub>1</sub> beta e a variação do LPH, no grupo G

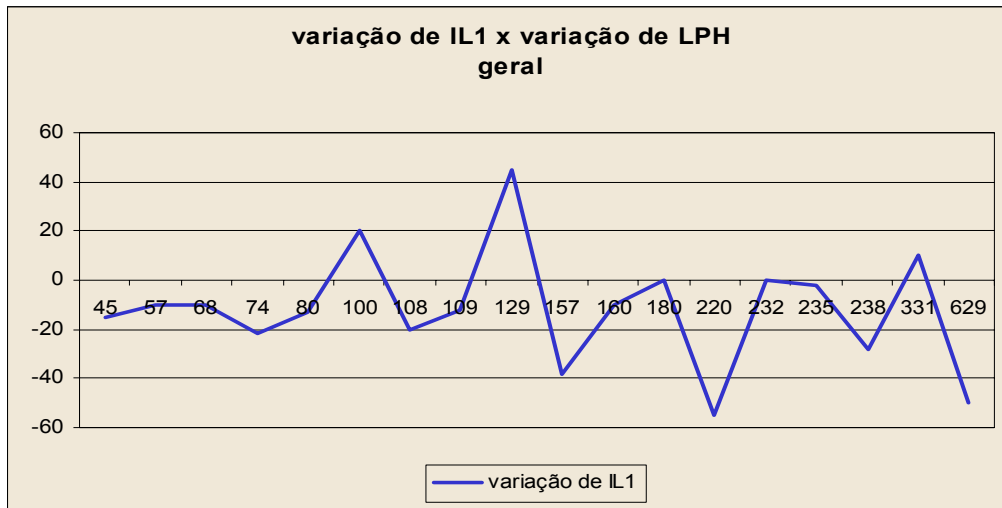


Figura nº 49 - Variação da Interleucina<sub>1</sub> beta e a variação do LPH, no grupo P

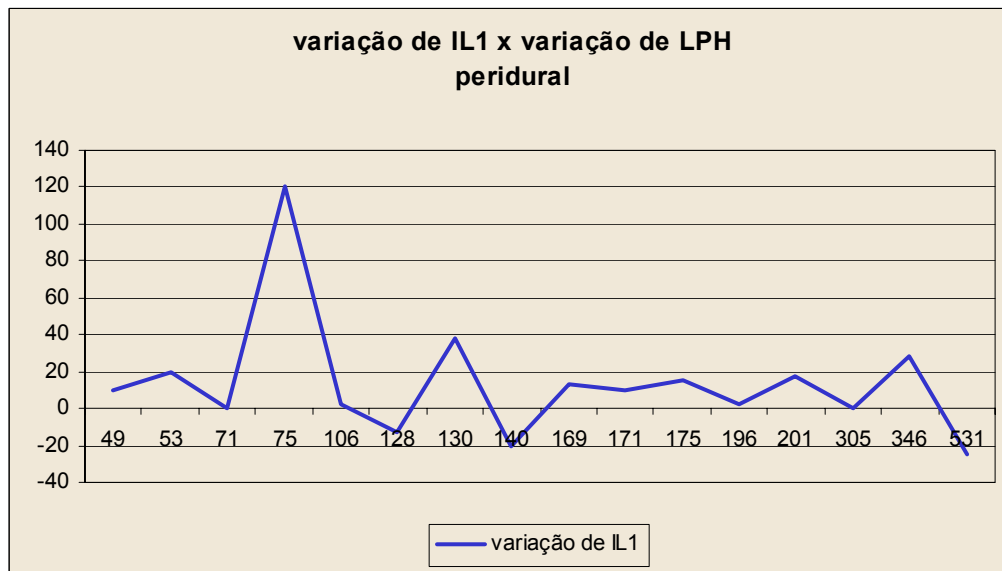
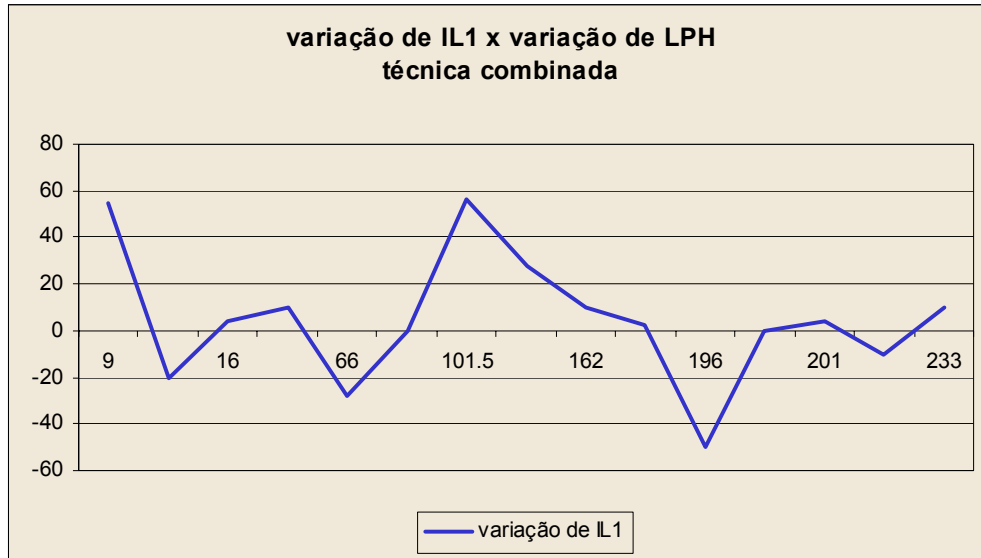


Figura nº 50 - Variação da interleucina<sub>1</sub> beta e a variação do LPH, no grupo TC



Quanto a IL<sub>2</sub>, pode-se concluir que não há correlação entre aumento de LPH e diminuição de IL<sub>2</sub> para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 51 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação do LPH, no grupo G

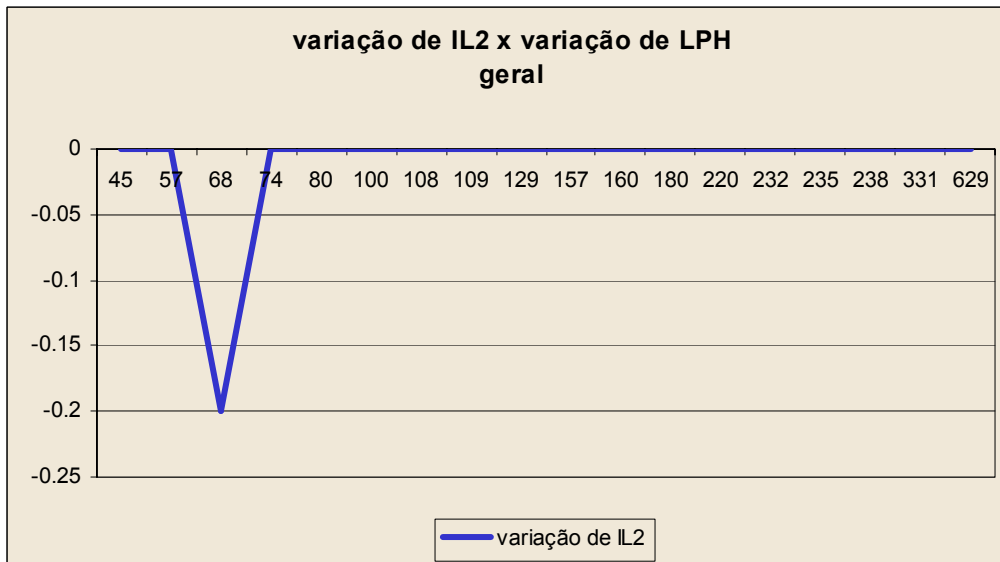


Figura nº 52 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação do LPH, no grupo P

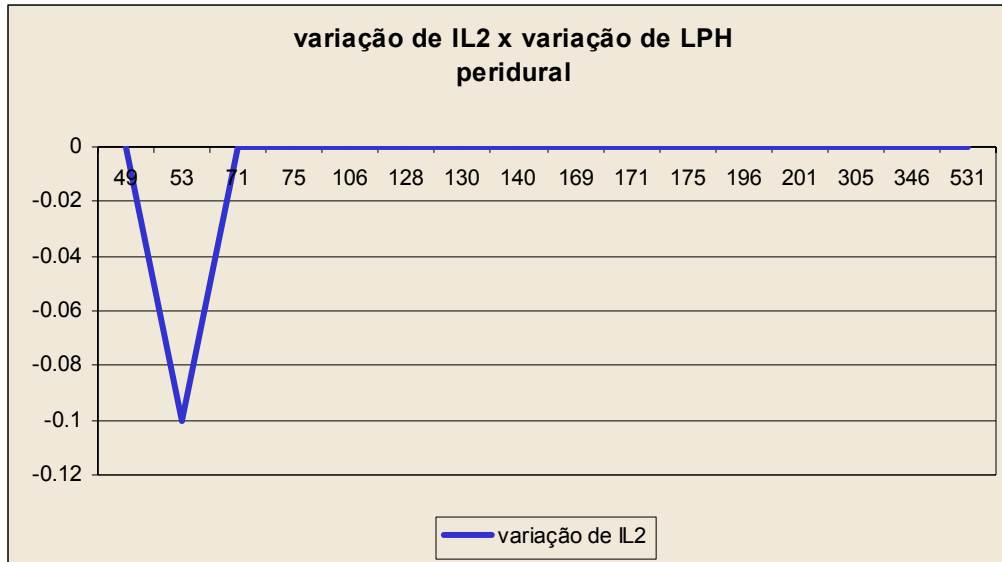
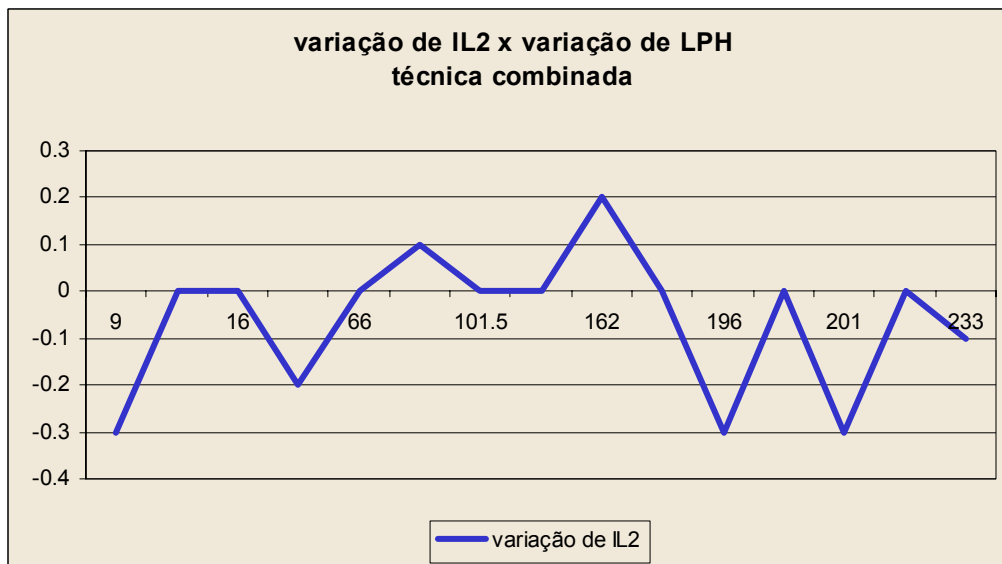


Figura nº 53 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação do LPH, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de LPH e diminuição de CD4 para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 54 - Variação do CD4 e a variação do LPH, no grupo G

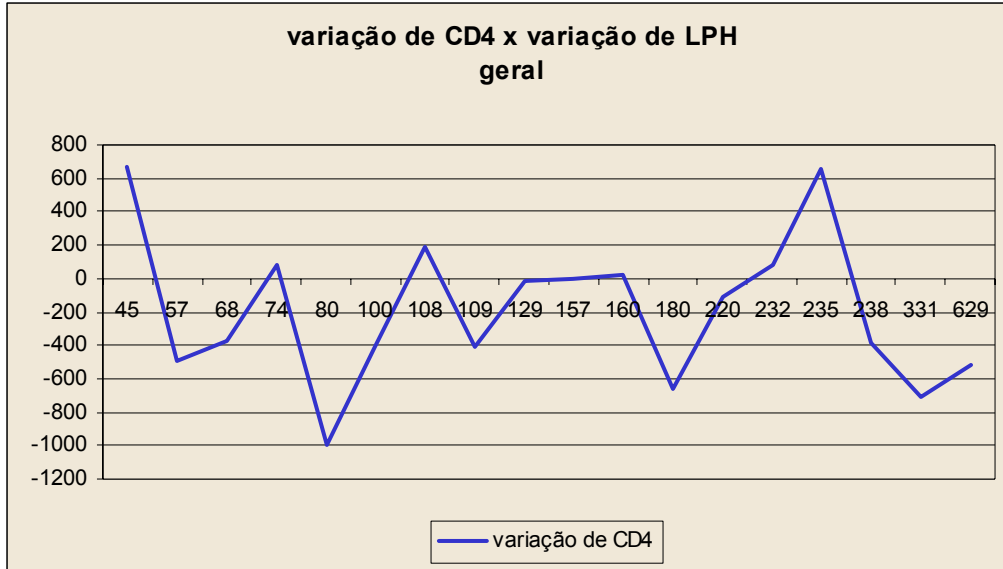


Figura nº 55 - Variação do CD4 e a variação do LPH, no grupo P

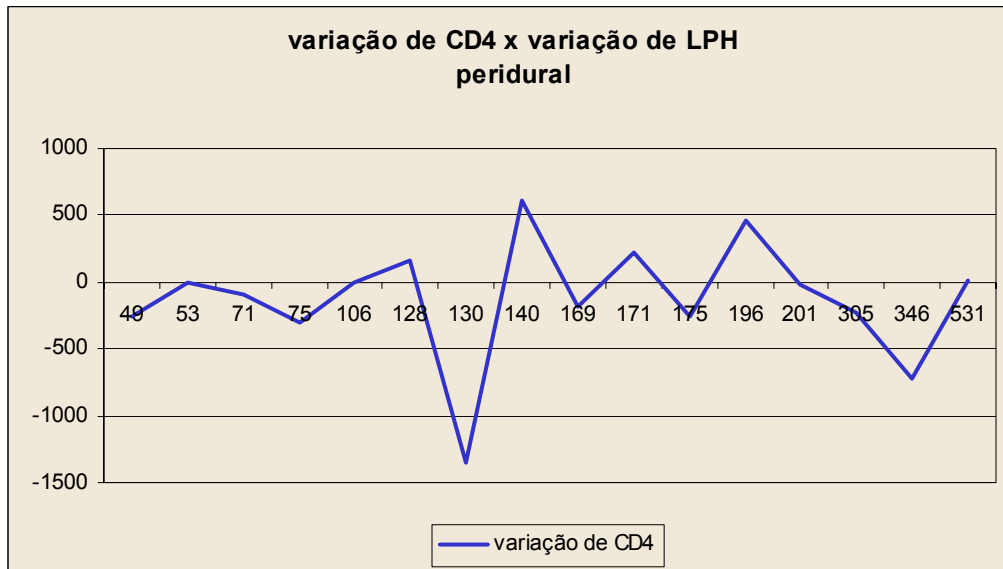
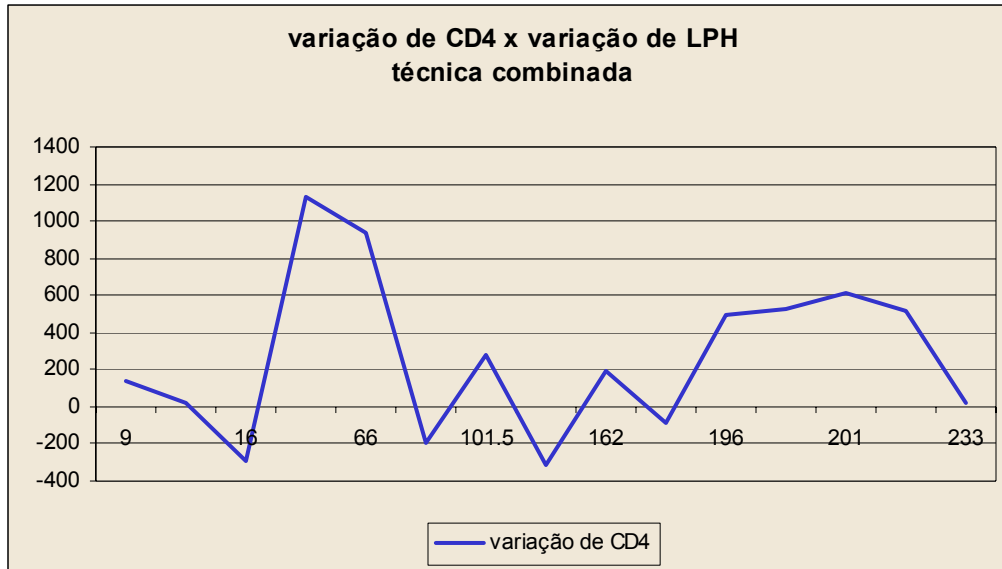


Figura nº 56 - Variação de CD4 e a variação de LPH, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de LPH e diminuição de CD8 para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 57 - Variação do CD8 e a variação do LPH, do grupo G

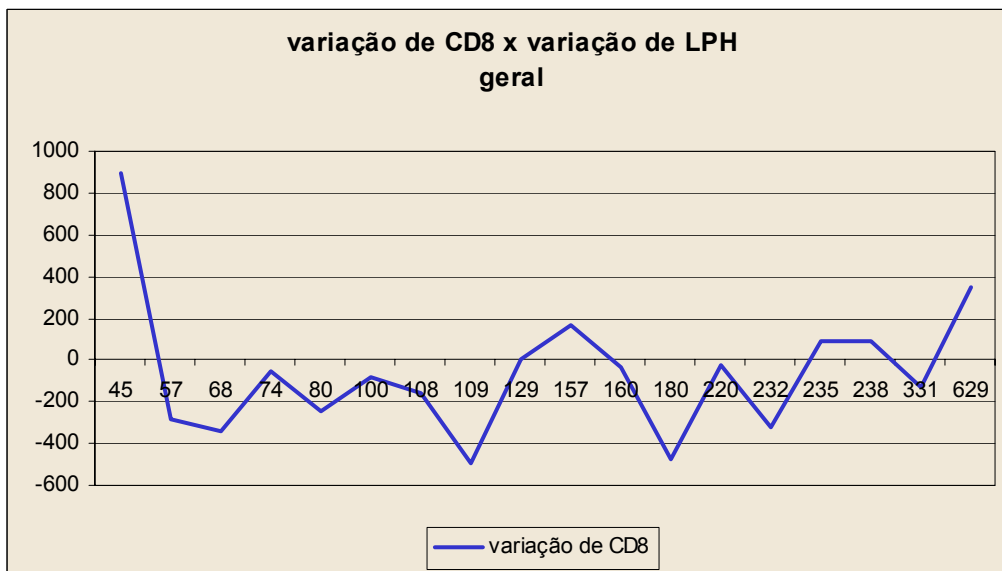




Figura nº 58 - Variação de CD8 e a variação de LPH, no grupo P

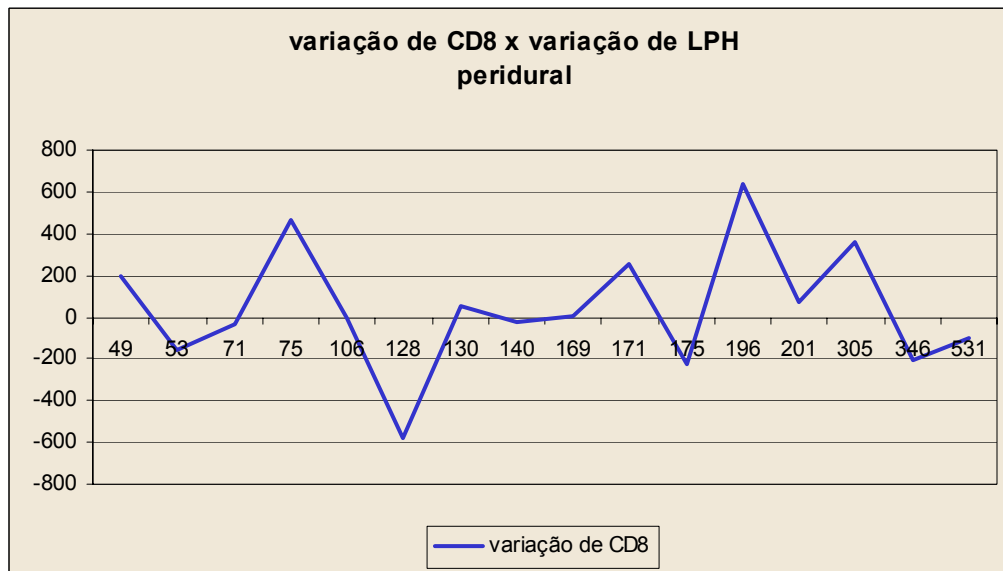
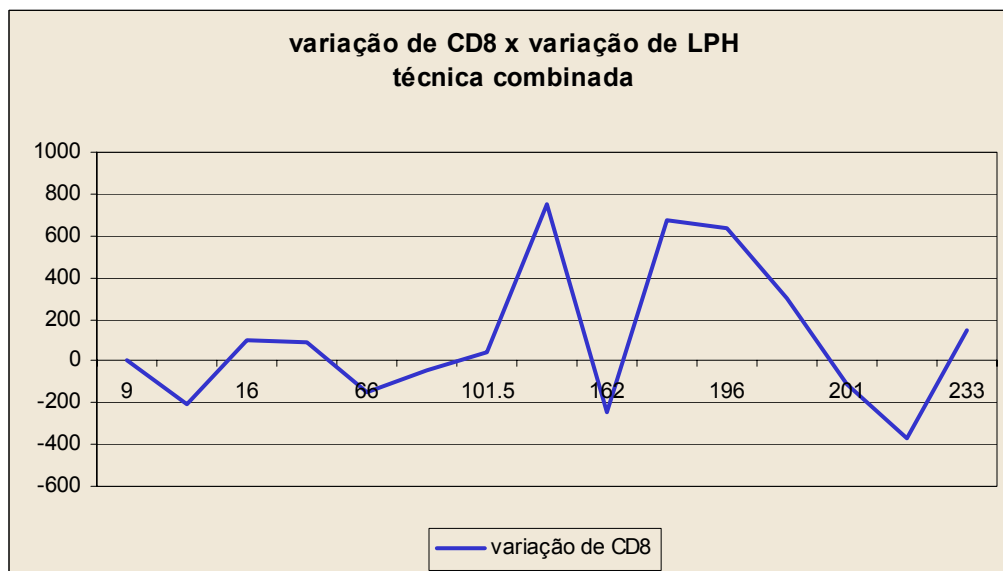


Figura nº 59 - Variação de CD8 e a variação de LPH, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de LPH e diminuição de LT para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 60 - Variação de LT e a variação de LPH, no grupo G

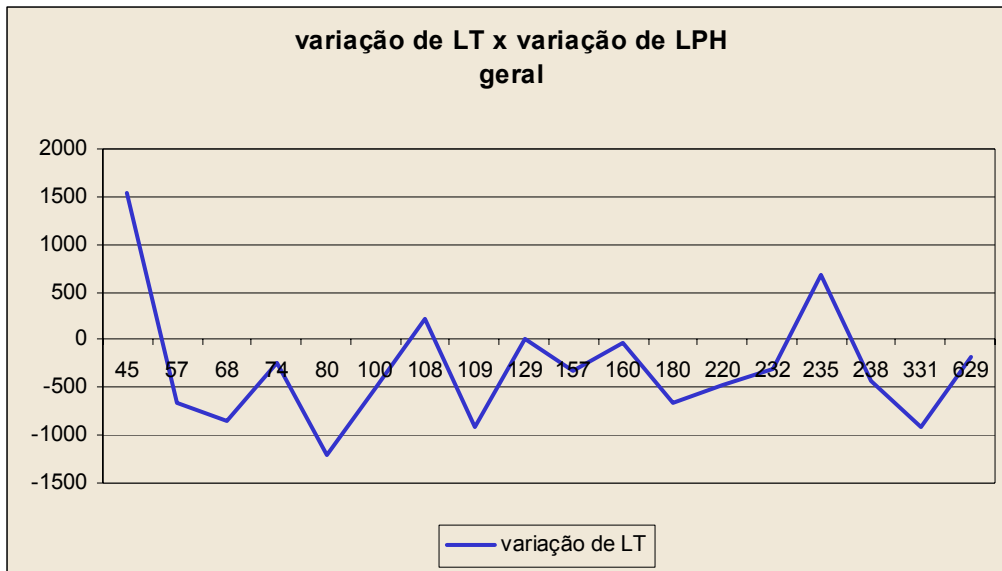


Figura nº 61 - Variação de LT e a variação de LPH, no grupo P

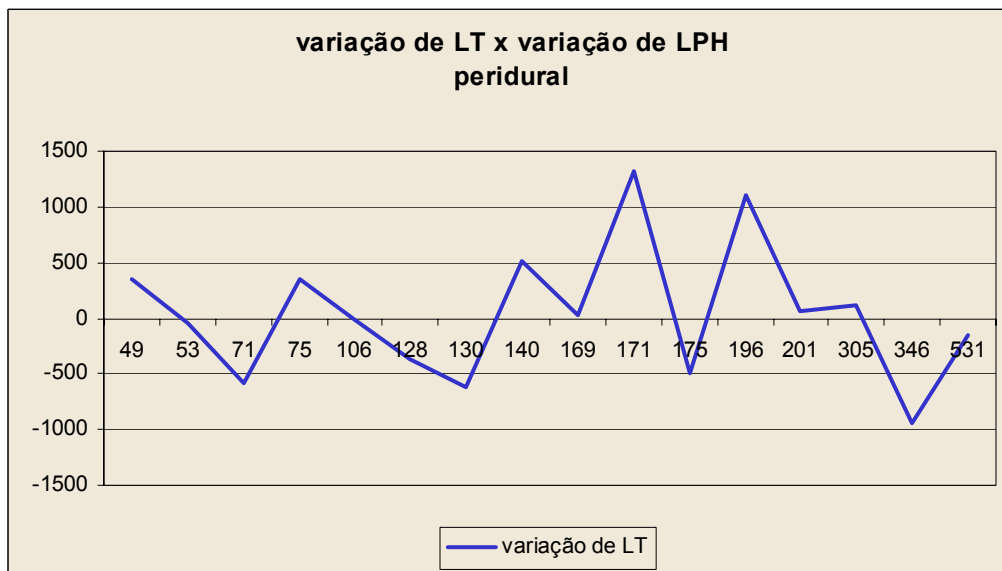
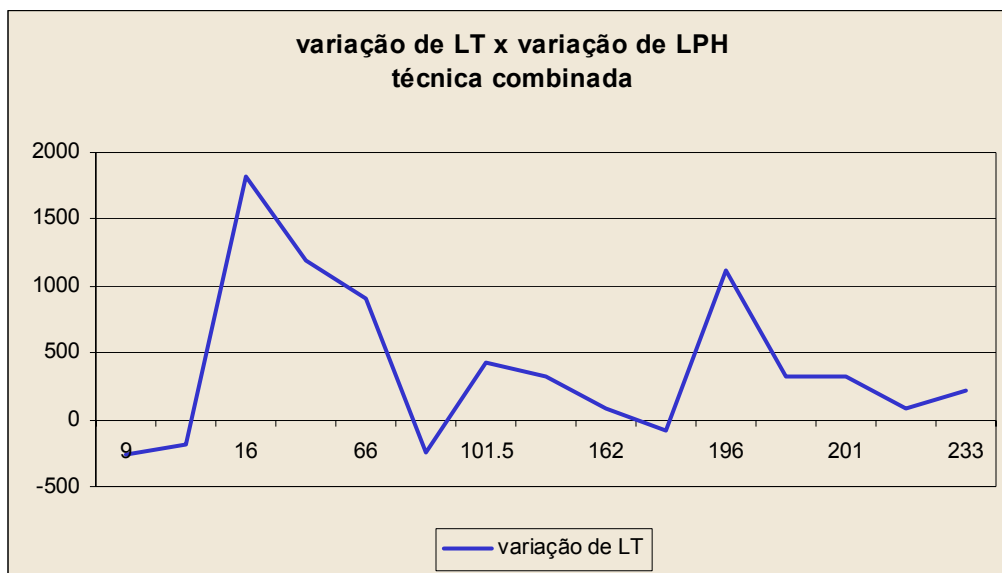


Figura nº 62 - Variação de LT e a variação de LPH, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de LPH e diminuição de LB para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 63 - Variação de LB e a variação de LPH, no grupo G

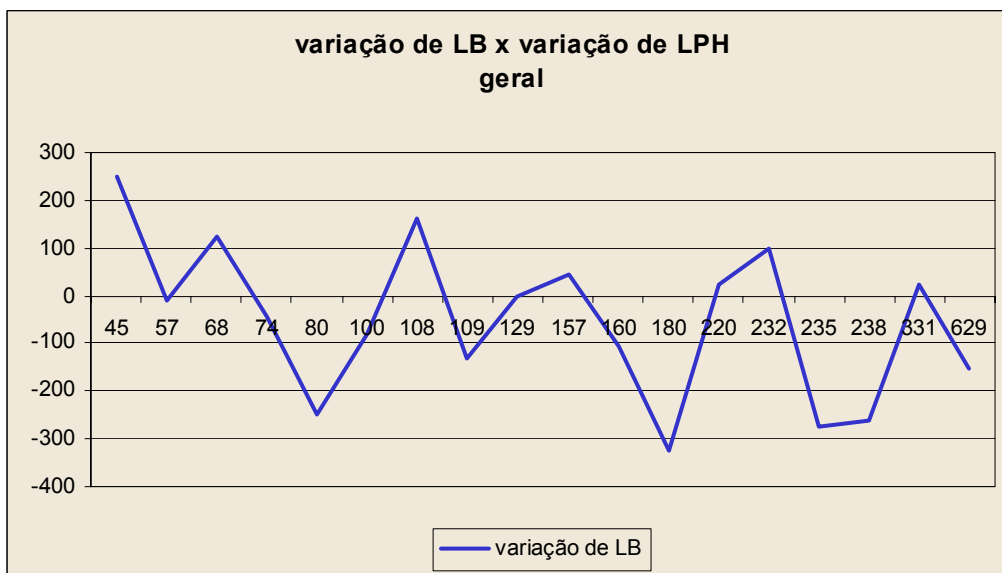


Figura nº 64 - Variação do LB e a variação de LPH, no grupo P

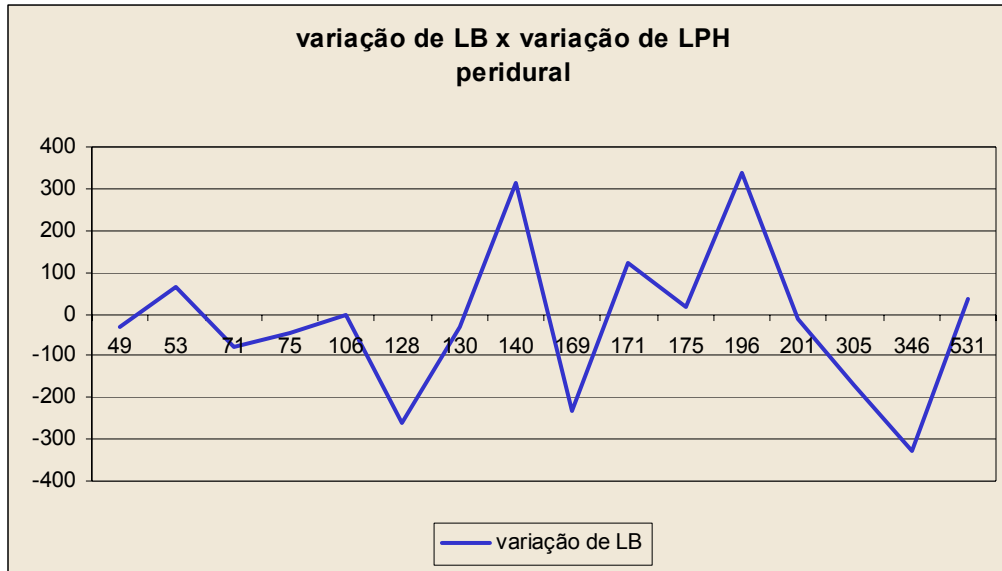


Figura nº 65 - Variação de LB e a variação de LPH, no grupo TC

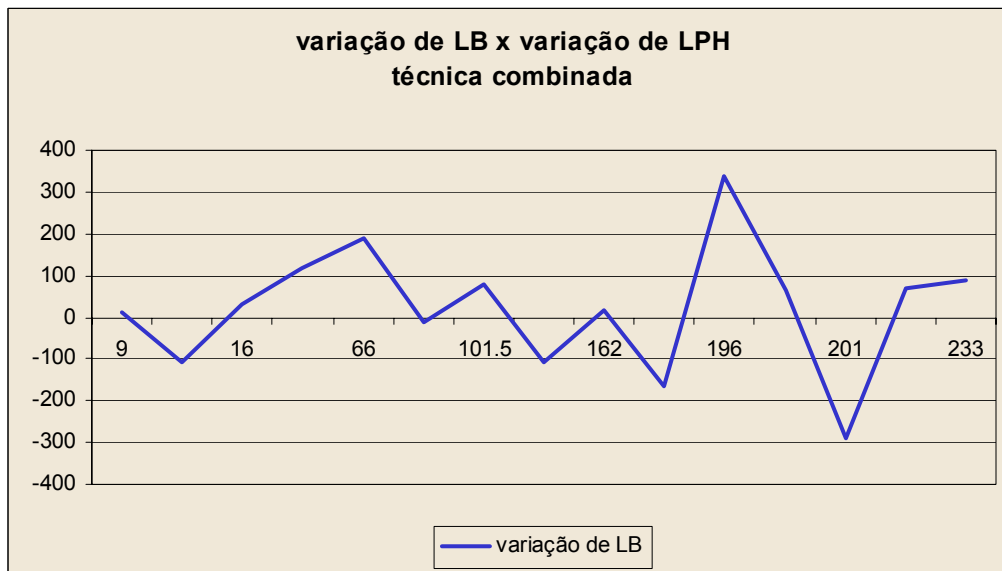


Tabela nº 57 - Correlação entre aumento de radicais livres e decréscimos de interleucina<sub>1</sub> beta, de interleucina<sub>2</sub>, de CD4, de CD8, de linfócitos T e de linfócitos B e nos grupos G, P e TC

Grupo	Kendall	N	$\tau$	Z	Probab	0.05	0.01
G	RL x IL1	18	0.183007	1.061	0.1444	NÃO	NÃO
	RL x IL2	18	0.111111	0.644	0.2598	NÃO	NÃO
	RL x CD4	18	-0.163399	-0.947	0.8382	NÃO	NÃO
	RL x CD8	18	-0.189542	-1.098	0.8739	NÃO	NÃO
	RL x LT	18	-0.084967	-0.492	0.6886	NÃO	NÃO
	RL x LB	18	-0.176471	-1.023	0.8468	NÃO	NÃO
P	RL x IL1	15	0.066667	0.346	0.3654	NÃO	NÃO
	RL x IL2	15	0.076190	0.396	0.3468	NÃO	NÃO
	RL x CD4	15	-0.085714	-0.445	0.6718	NÃO	NÃO
	RL x CD8	15	0.352381	1.831	0.0335	SIM	NÃO
	RL x LT	15	0.238095	1.237	0.1088	NÃO	NÃO
	RL x LB	15	0.142857	0.742	0.2290	NÃO	NÃO
TC	RL x IL1	19	0.011696	0.070	0.4721	NÃO	NÃO
	RL x IL2	19	-0.070175	-0.420	0.6628	NÃO	NÃO
	RL x CD4	19	0.280702	1.679	0.0466	SIM	NÃO
	RL x CD8	19	0.228070	1.364	0.0863	NÃO	NÃO
	RL x LT	19	0.228070	1.364	0.0863	NÃO	NÃO
	RL x LB	19	0.286550	1.714	0.0432	SIM	NÃO

Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de IL1 nos grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 66 - Variação de interleucina<sub>1</sub> beta e a variação de radicais livres, no grupo G

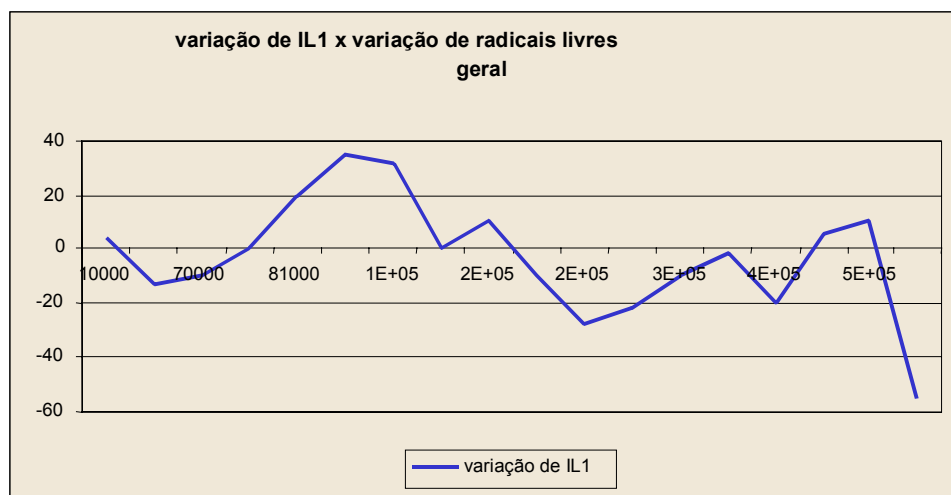


Figura nº 67 - Variação de interleucina<sub>1</sub> beta e a variação de radicais livres, no grupo P

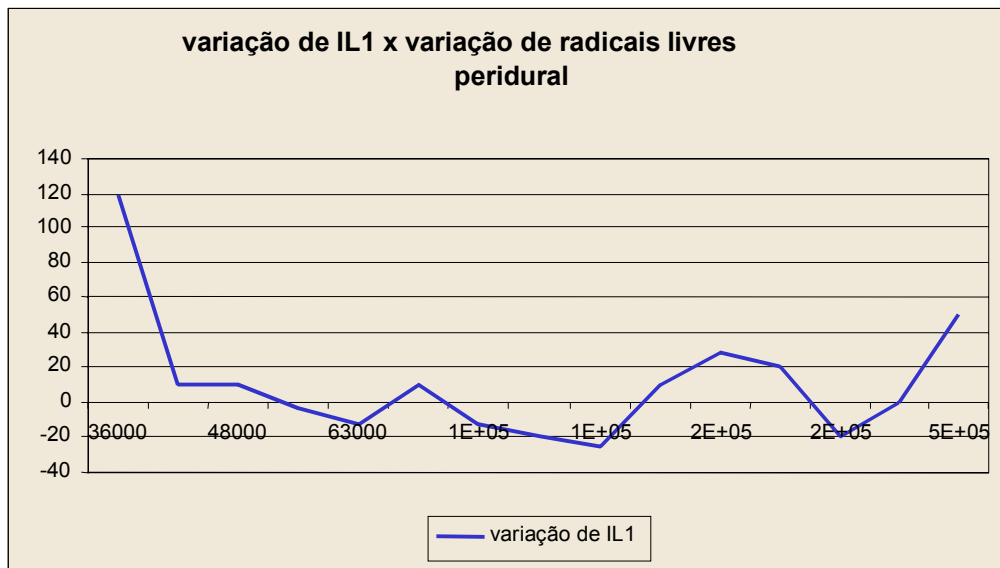
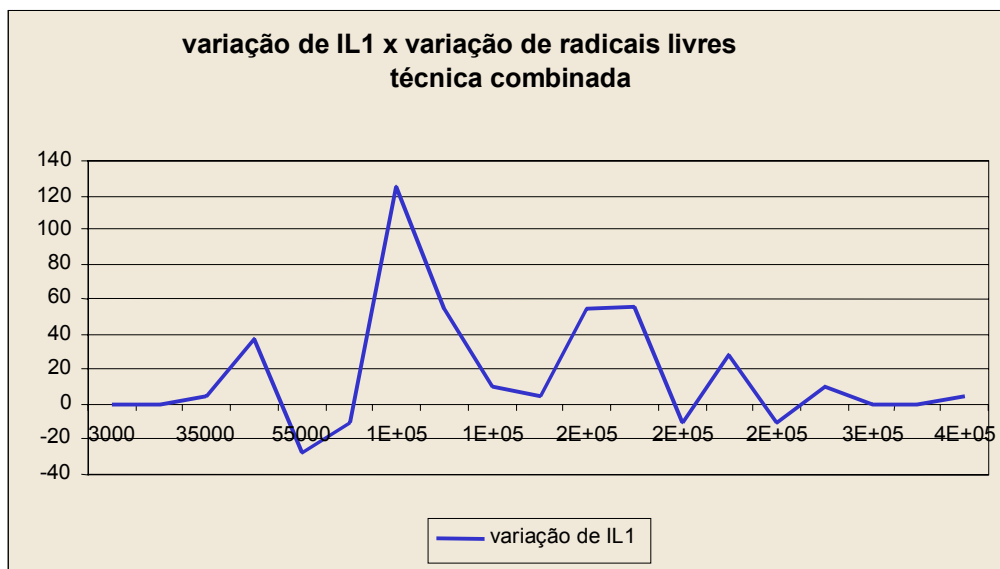


Figura nº 68 - Variação de interleucina<sub>1</sub> beta e a variação de radicais livres, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de IL<sub>2</sub> nos grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 69 - Variação da Interleucina<sub>2</sub> e a variação da radicais livres no grupo G

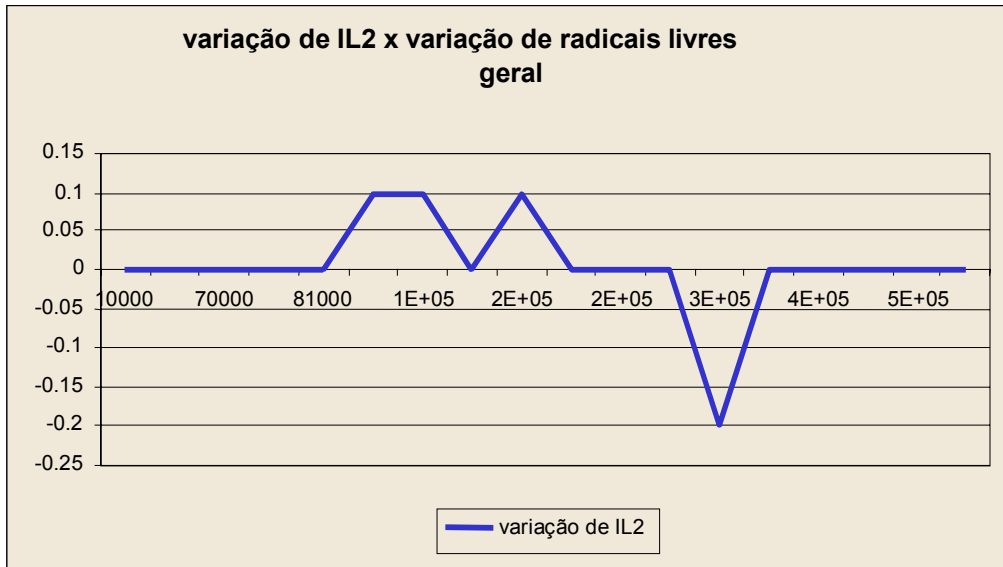


Figura nº 70 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação de radicais livres, no grupo P

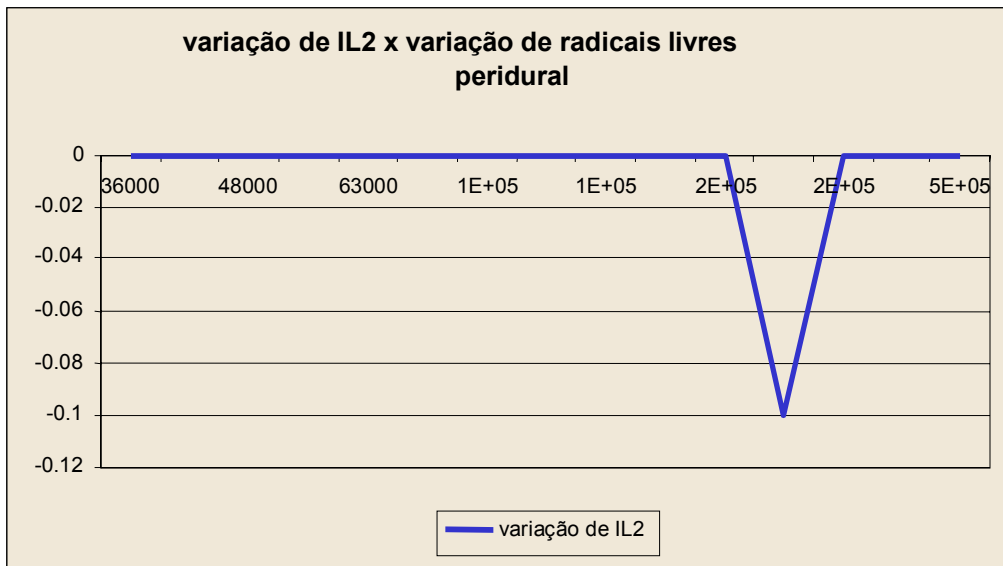
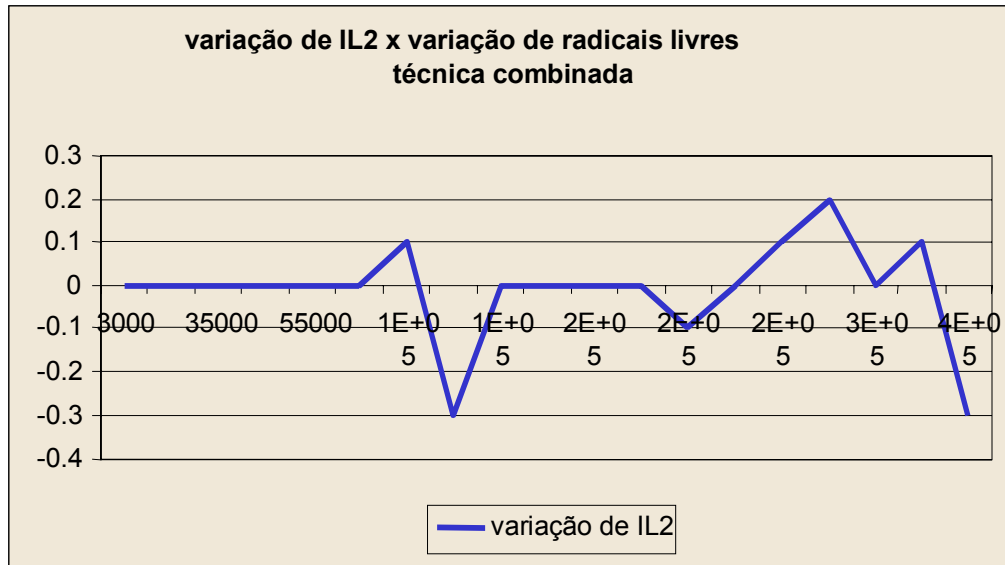


Figura nº 71 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação de radicais livres, no grupo

TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de CD4 para os grupos G e P , mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº72 - Variação de CD4 e a variação de radicais livres, no grupo G

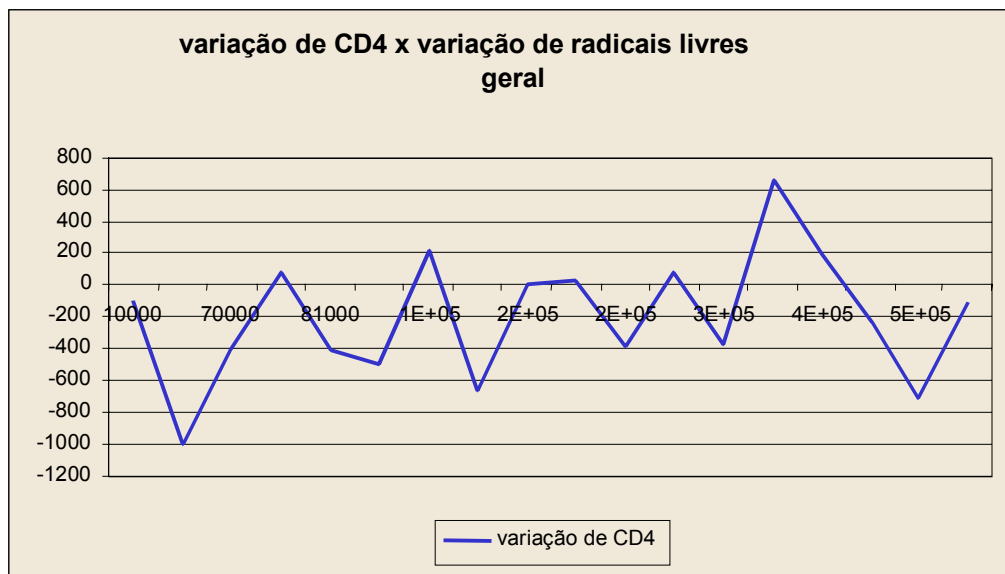
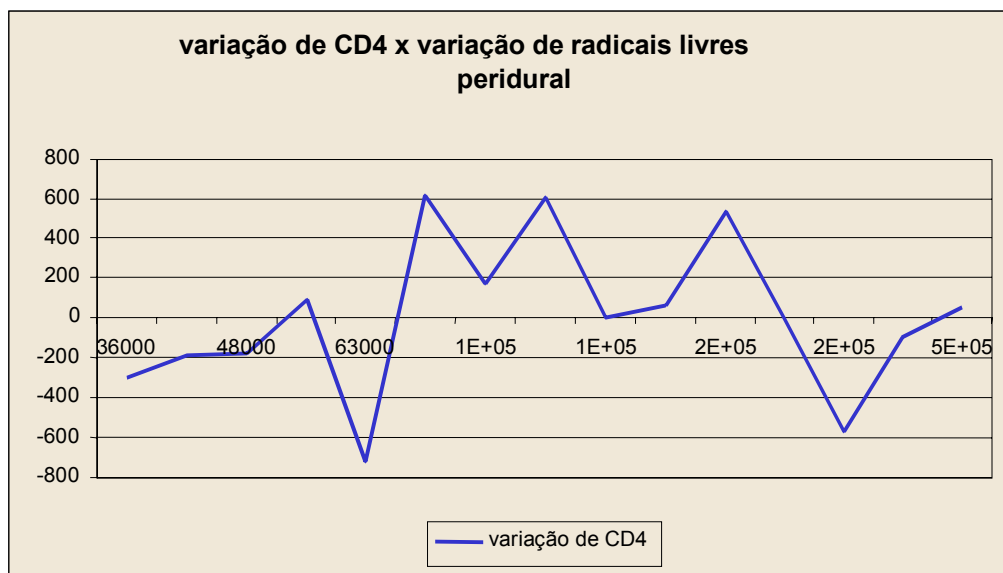


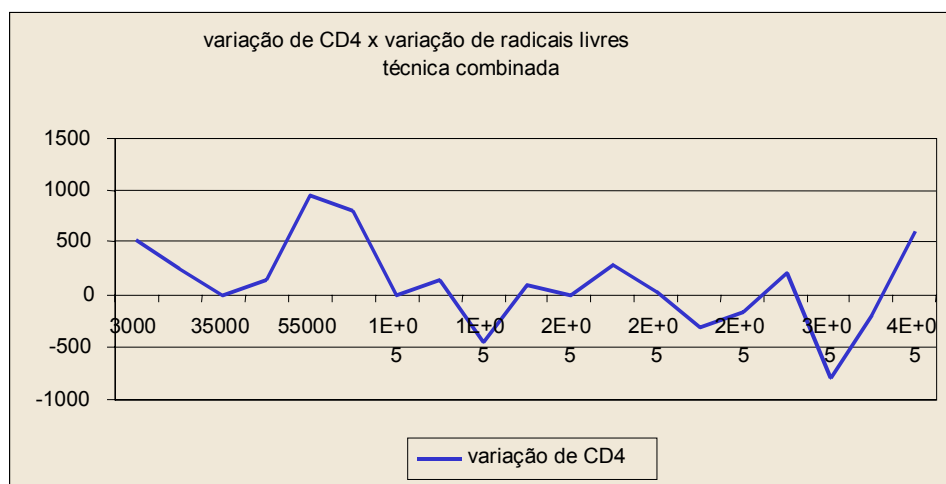


Figura nº 73 - Variação de CD4 e a variação de radicais livres, no grupo P



No entanto, para o grupo TC concluir que há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de CD4 para este grupo ao nível de significância de 0,05 mas não há ao nível de significância de 0,01.

Figura nº74 - Variação de CD4 e a variação de radicais livres no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre o aumento de quimioluminescência e diminuição de CD8 nos grupos, G e TC mesmo ao nível

de significância de 0,05.

Figura nº 75 - Variação de CD8 e a variação de radicais livres, no grupo G

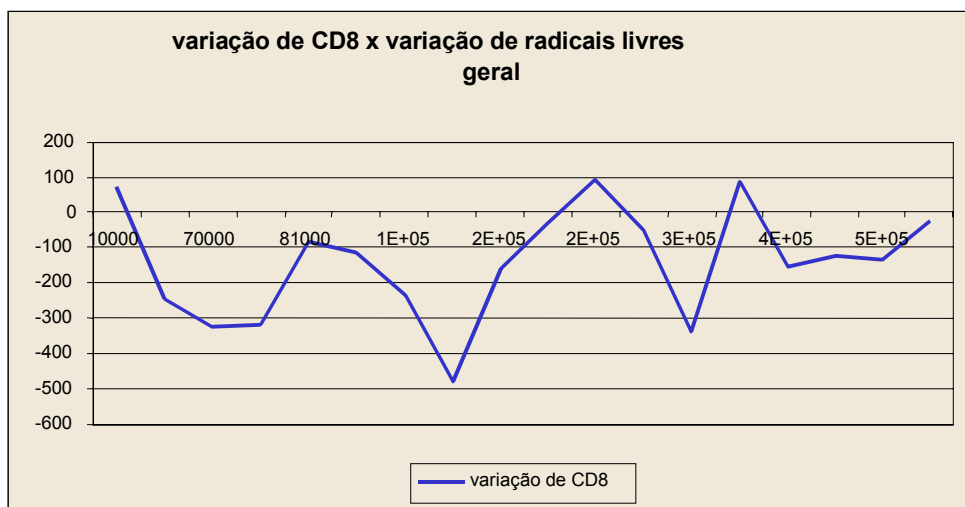
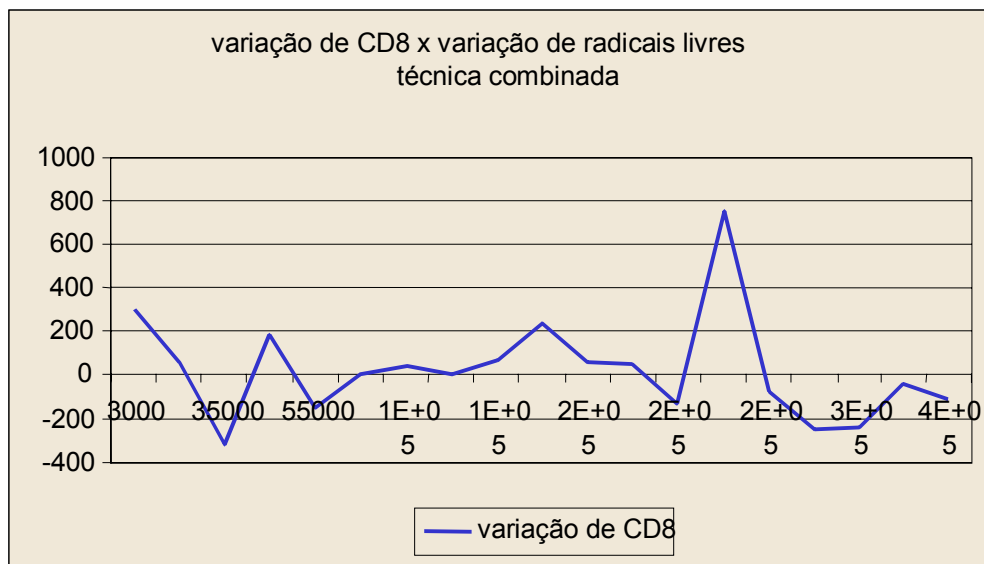
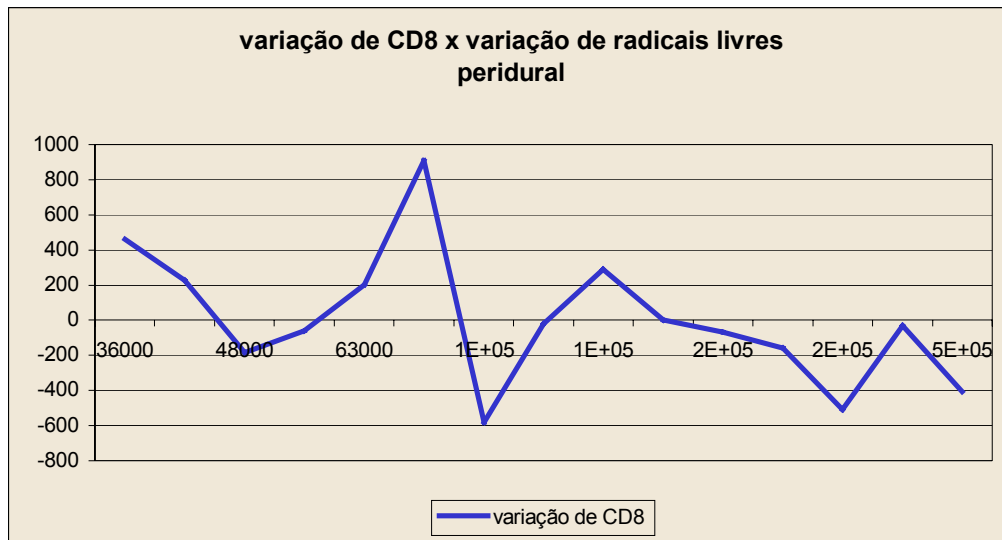


Figura nº 76 - Variação de CD8 e a variação de radicais livres, no grupo TC



Pode-se concluir que há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de CD8 para o grupo P, ao nível de significância de 0,05, mas não ao nível de significância de 0,01.

Figura nº 77 - Variação de CD8 e a variação de radicais livres, no grupo P



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de LT para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 78 - Variação de LT e a variação de radicais livres, no grupo G

**variação de LT x variação de radicais livres  
geral**

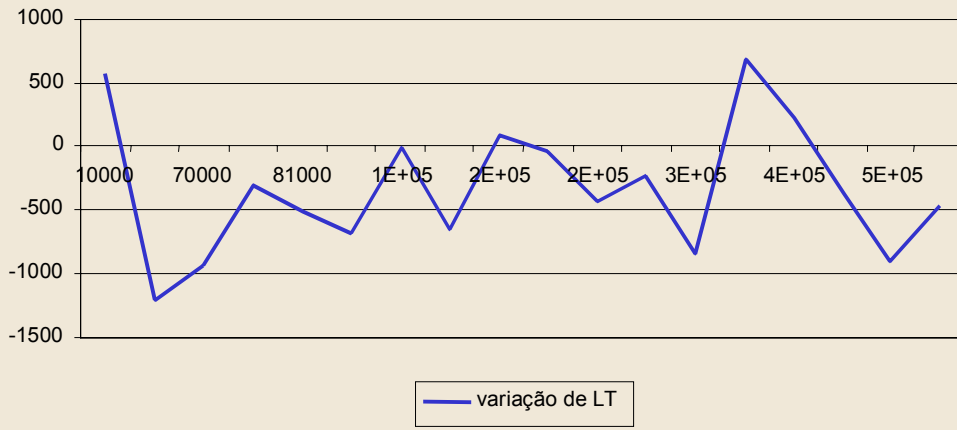


Figura nº 79 - Variação de LT e a variação de radicais livres, no grupo P

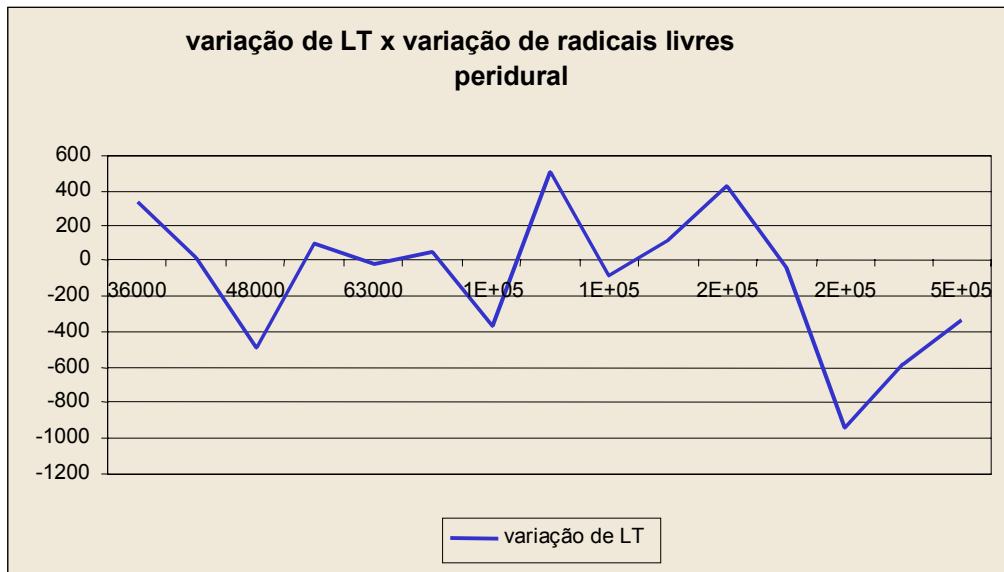
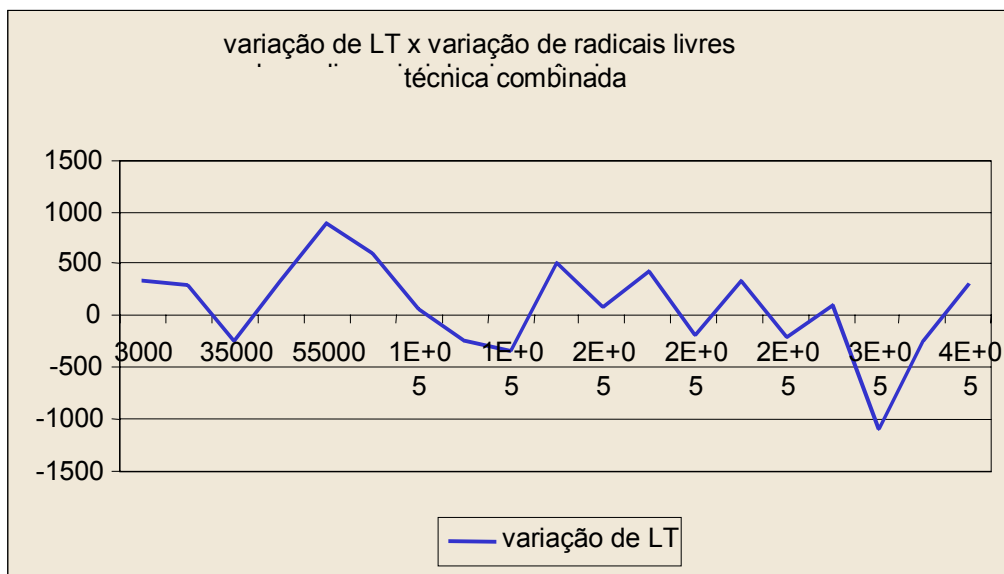


Figura nº 80 - Variação de LT e variação de radicais livres, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de LB para o grupo P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 81 - Variação de LB e a variação de radicais livres, no grupo G

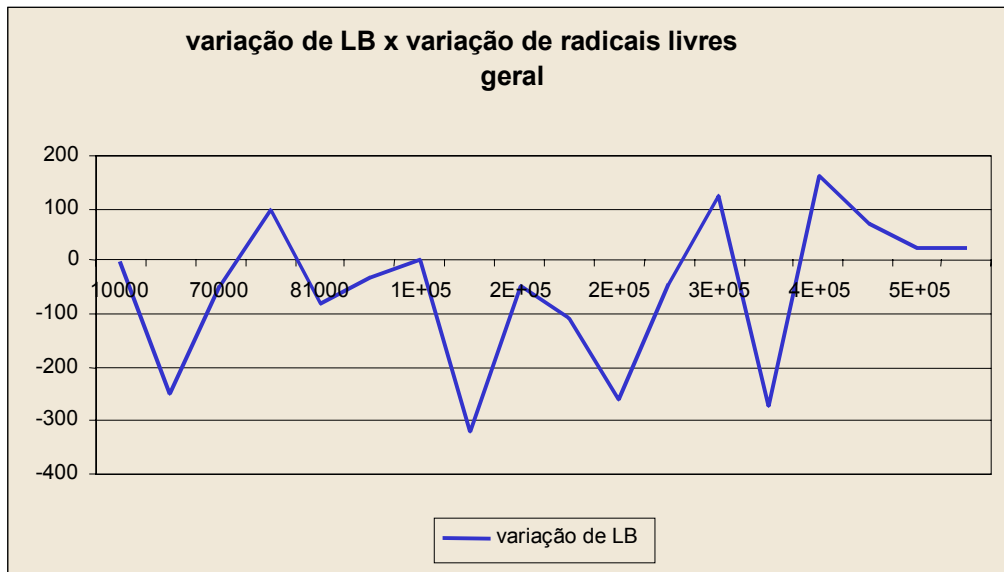
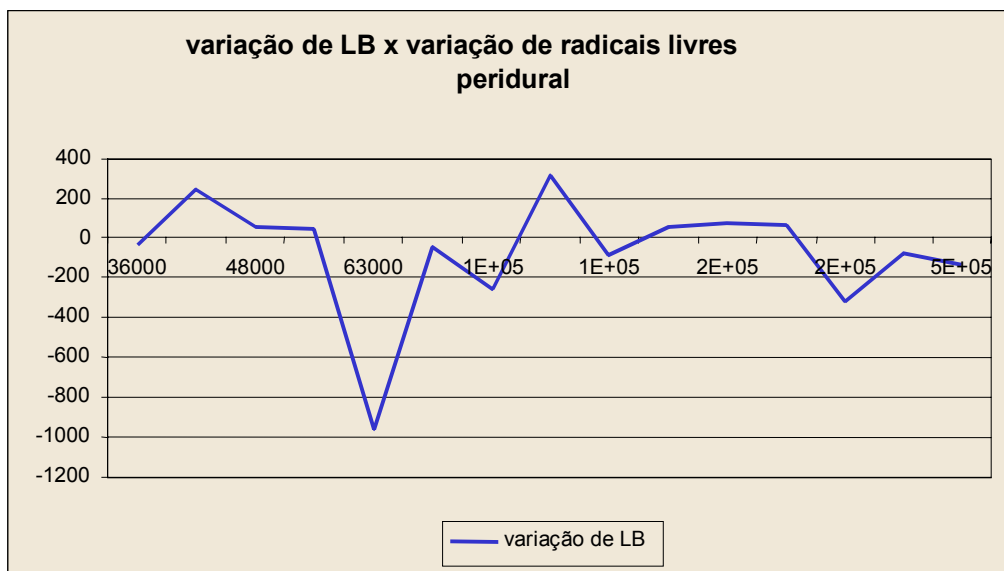
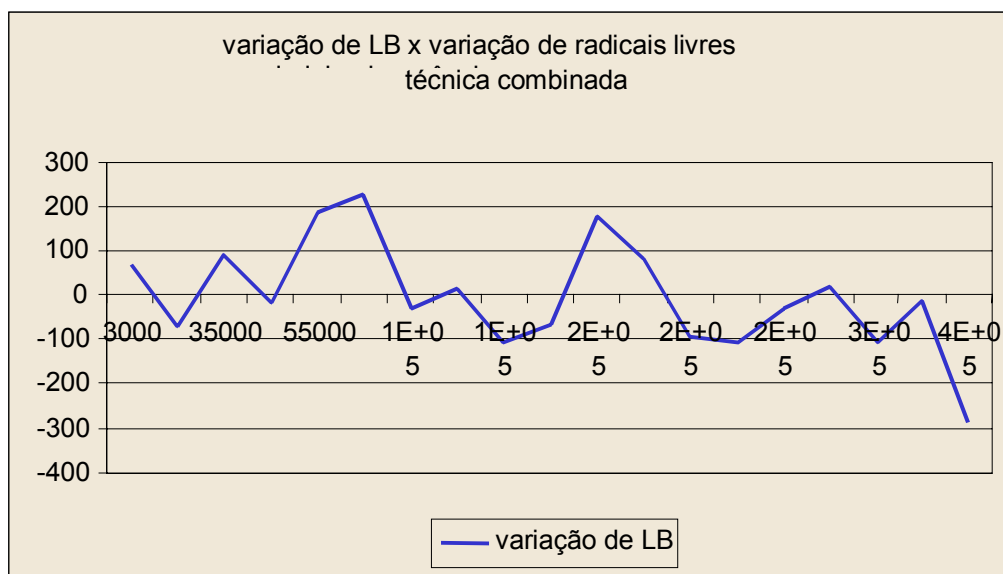


Figura nº 82 - Variação de LB e a variação de radicais livres, no grupo P



Pode-se concluir que há correlação entre aumento de quimioluminescência e diminuição de LB para o grupo TC, ao nível de significância de 0,05, mas não ao nível de significância 0,01.

Figura nº 83 - Variação de LB e a variação de radicais livres, no grupo TC

Tabela nº 58 - Correlação entre aumento de explosão respiratória e decréscimos de interleucina<sub>1</sub>, interleucina<sub>2</sub>, CD4, CD8, linfócitos T e de linfócitos B, nos grupos G, P e TC.

Grupo	Kendall	N	$\tau$	Z	Probab	0.05	0.01
G	ER x IL1	16	-0.058333	-0.315	0.3764	NÃO	NÃO
	ER x IL2	16	-0.050000	-0.270	0.6064	NÃO	NÃO
	ER x CD4	16	0.125000	0.675	0.2498	NÃO	NÃO
	ER x CD8	16	-0.208333	-1.126	0.8699	NÃO	NÃO
	ER x LT	16	-0.075000	-0.405	0.6572	NÃO	NÃO
	ER x LB	16	0.025000	0.135	0.4463	NÃO	NÃO
P	ER x IL1	23	-0.051383	-0.343	0.6342	NÃO	NÃO
	ER x IL2	23	0.055336	0.370	0.3557	NÃO	NÃO
	ER x CD4	23	-0.043478	-0.291	0.6145	NÃO	NÃO
	ER x CD8	23	0.181818	1.215	0.1122	NÃO	NÃO
	ER x LT	23	0.019763	0.132	0.4475	NÃO	NÃO
	ER x LB	23	-0.134387	-0.898	0.8154	NÃO	NÃO
TC	ER x IL1	18	0.333333	1.932	0.0267	SIM	NÃO
	ER x IL2	18	0.183007	1.061	0.1444	NÃO	NÃO
	ER x CD4	18	0.006536	0.038	0.4848	NÃO	NÃO
	ER x CD8	18	0.071895	0.417	0.3383	NÃO	NÃO
	ER x LT	18	-0.052288	-0.303	0.6189	NÃO	NÃO
	ER x LB	18	0.032680	0.189	0.4251	NÃO	NÃO

Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de Radicais Livres e diminuição de IL<sub>1</sub> os grupos G e P, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº84 - Variação da interleucina<sub>1</sub> e a variação da explosão respiratória,

no grupo G

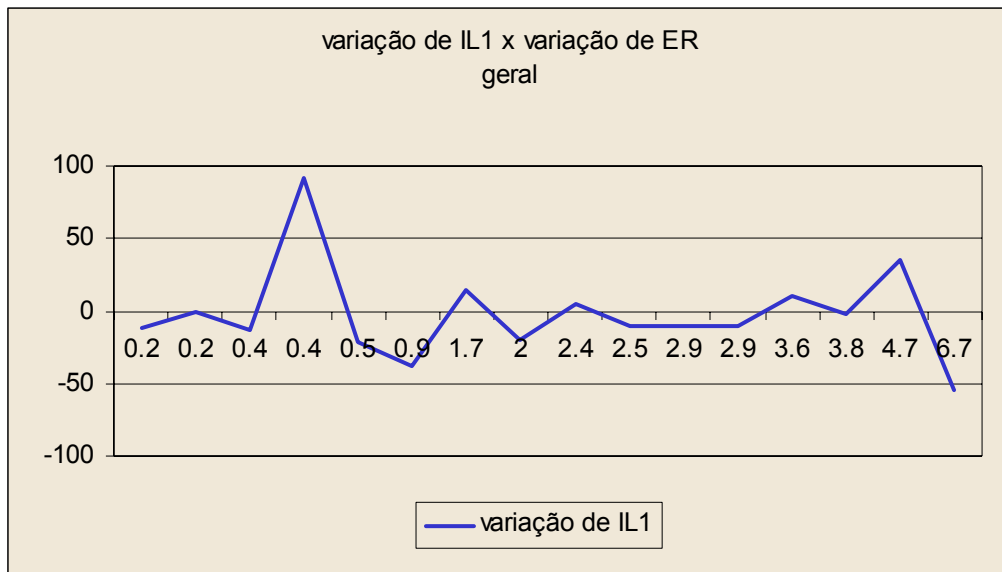
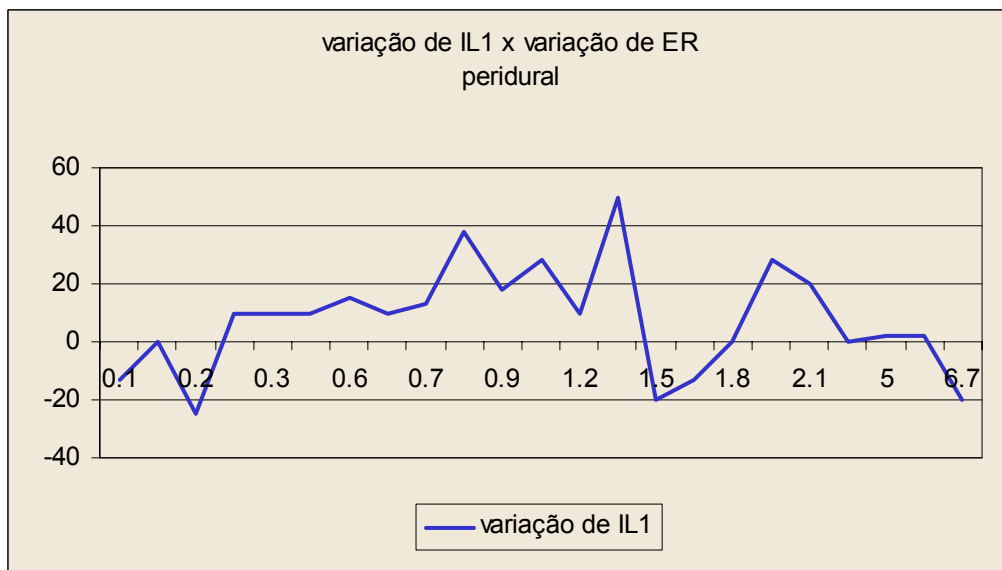


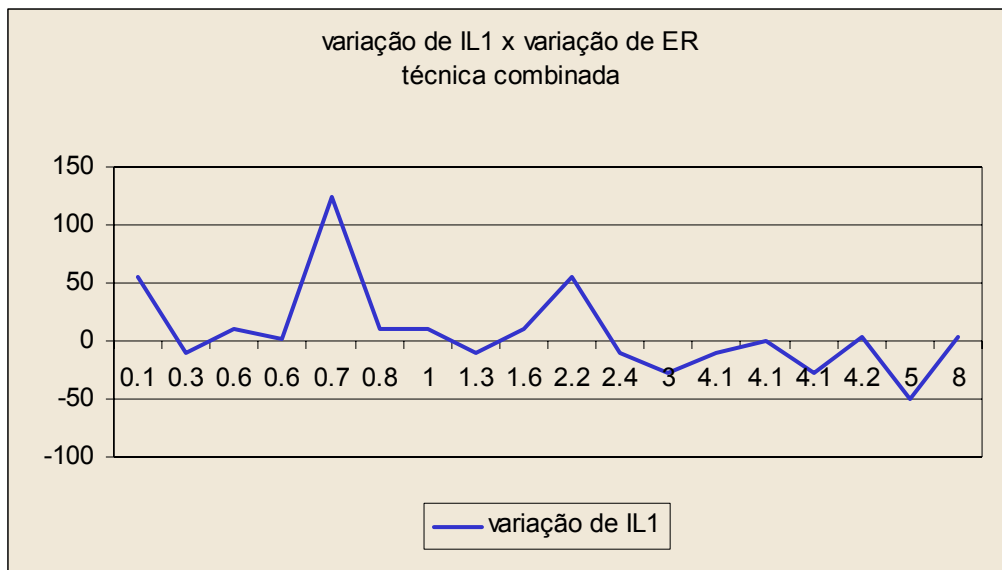
Figura nº 85 - Variação da interleucina<sub>1</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo P



Pode-se concluir que há correlação entre aumento de ER e diminuição de IL<sub>1</sub> para o grupo TC, ao nível de significância de 0,05, mas não há ao nível de significância 0,01.

Figura nº86 - Variação de interleucina<sub>1</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo TC





Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de ER e diminuição de IL<sub>2</sub> para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº87 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo G

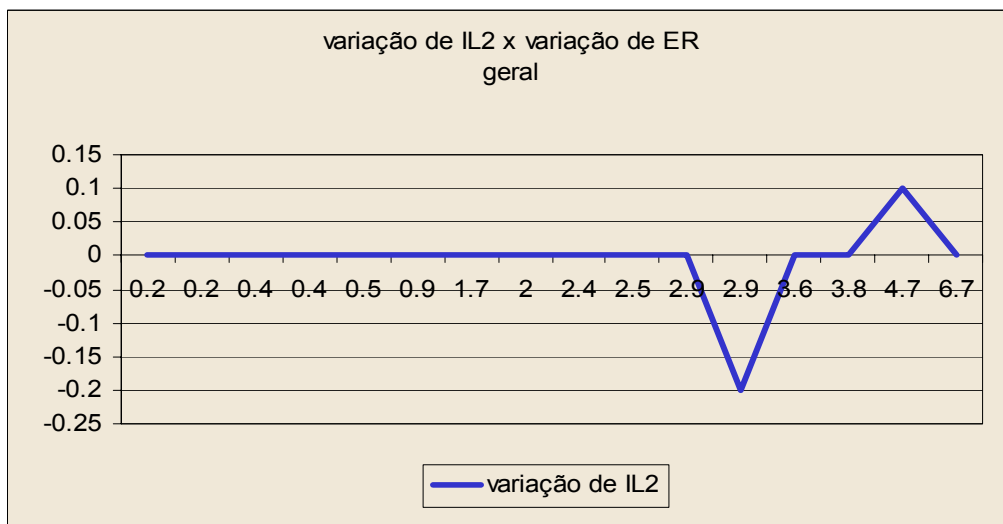
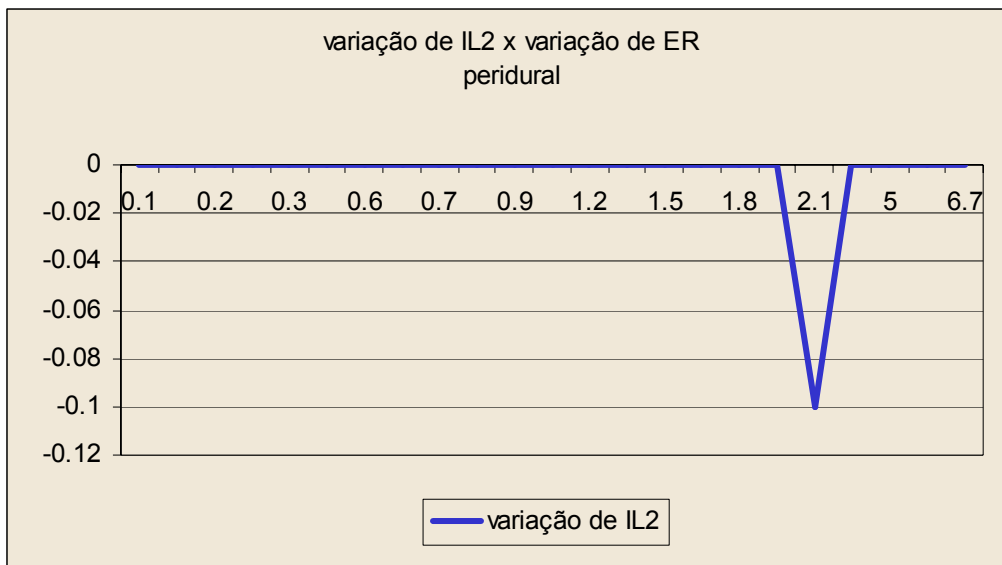
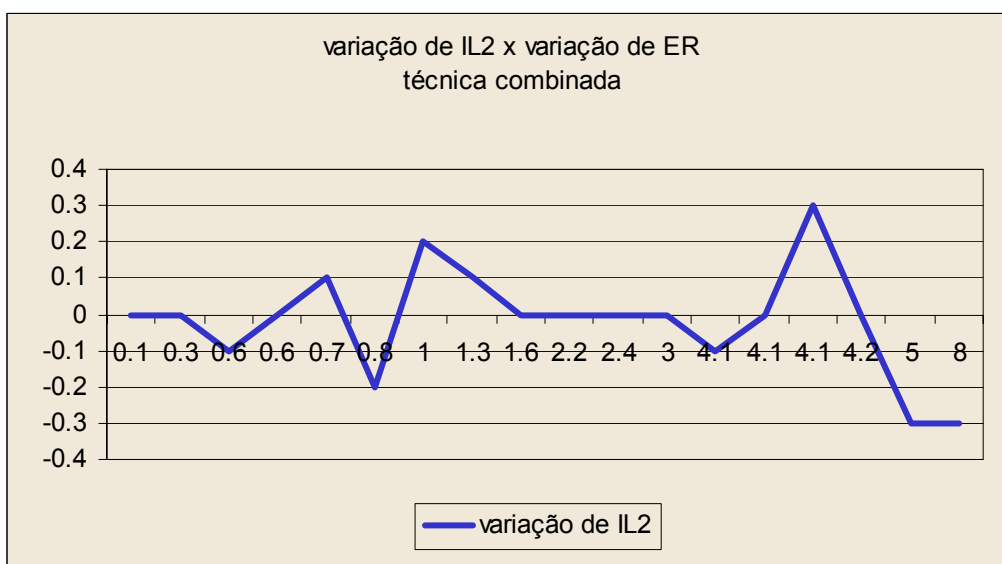


Figura nº88 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação da explosão respiratória, no grupo P



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de ER e diminuição de IL<sub>2</sub> para este grupo, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº89 - Variação da interleucina<sub>2</sub> e a variação de explosão respiratória, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de ER e diminuição de CD4 para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 90 - Variação de CD4 e a variação de explosão respiratória, no grupo G

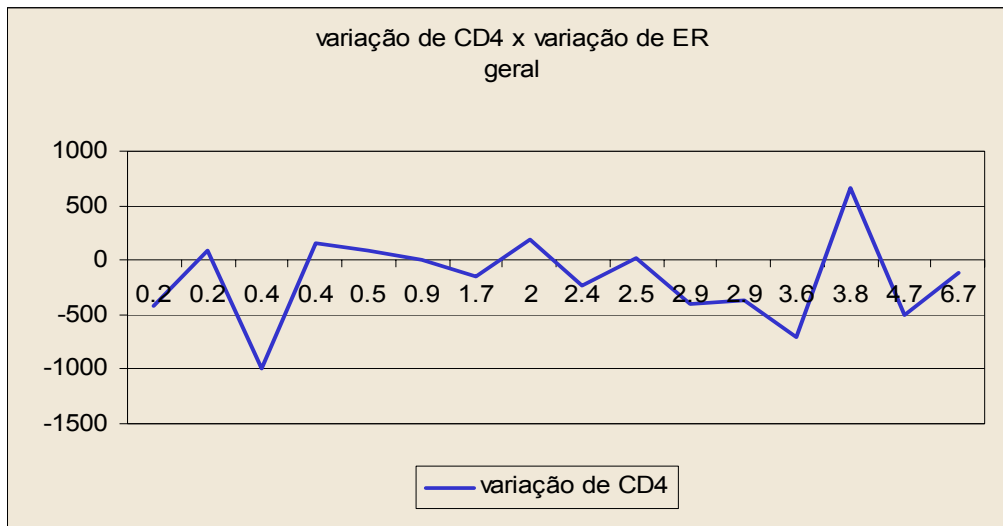


Figura nº 91 - Variação do CD4 e a variação de explosão respiratória, no grupo P

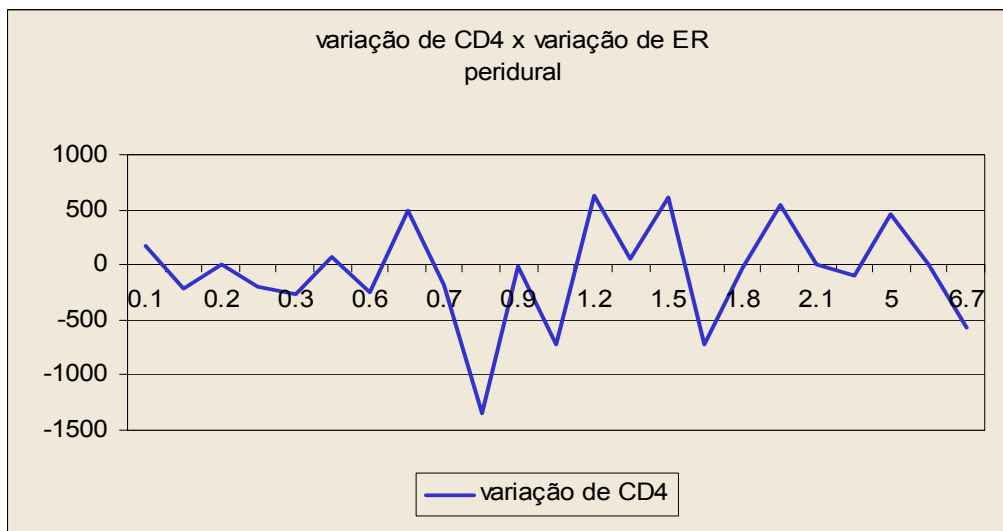
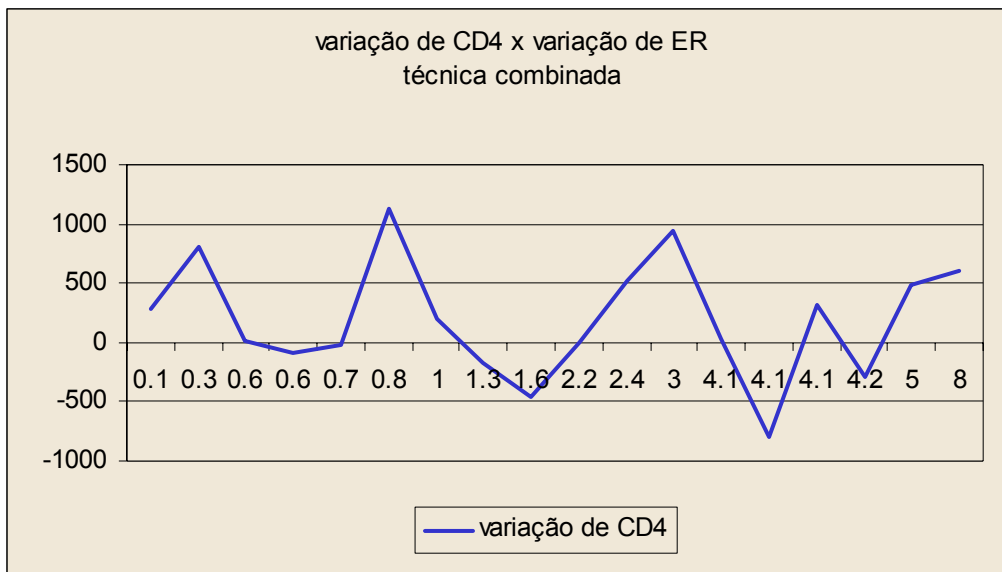


Figura nº 92 - Variação de CD4 e a variação de explosão respiratória, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de ER e diminuição de CD8 para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 93 - Variação de CD8 e a variação de explosão respiratória, no grupo G

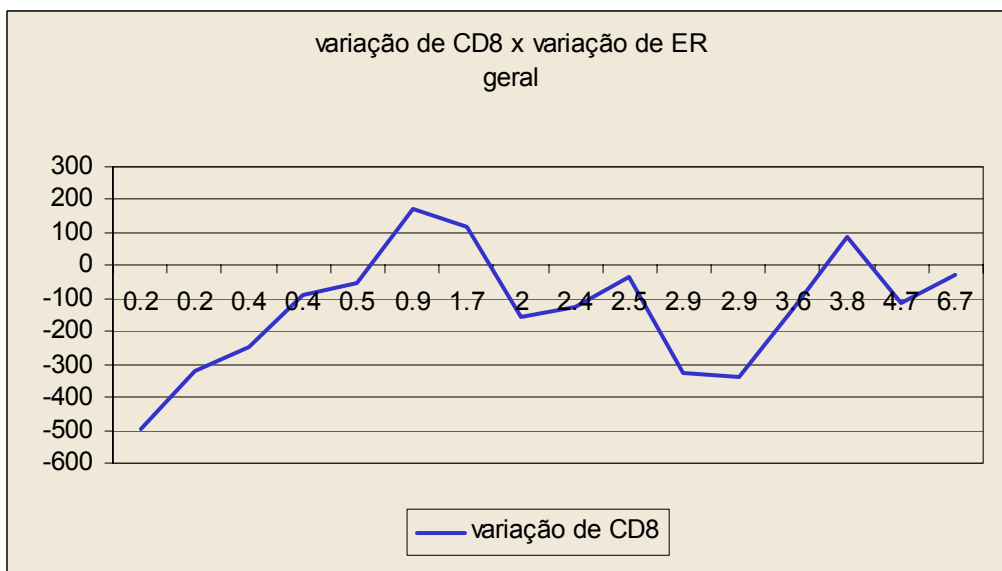


Figura nº 94 - Variação de CD8 e a variação de explosão respiratória, no grupo P

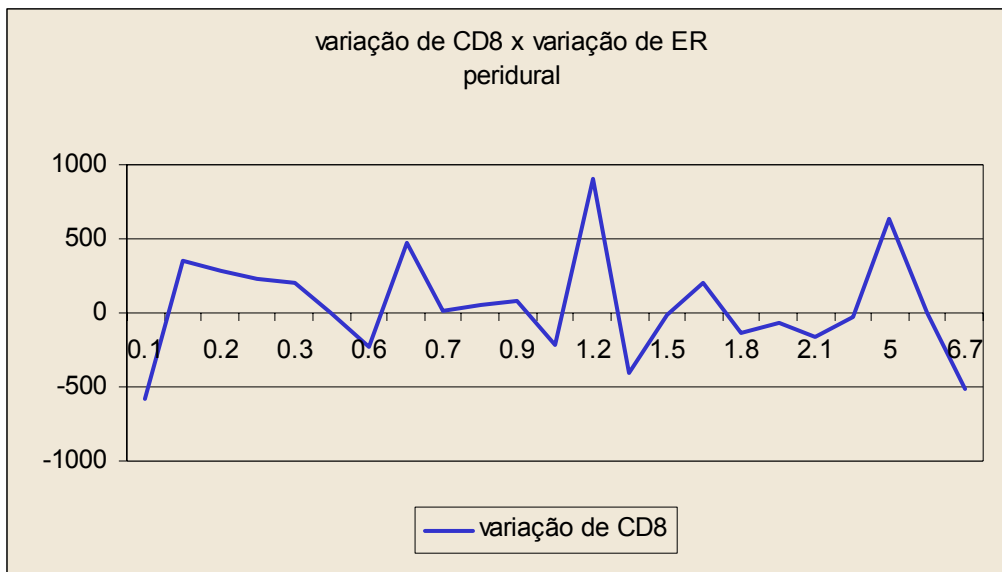
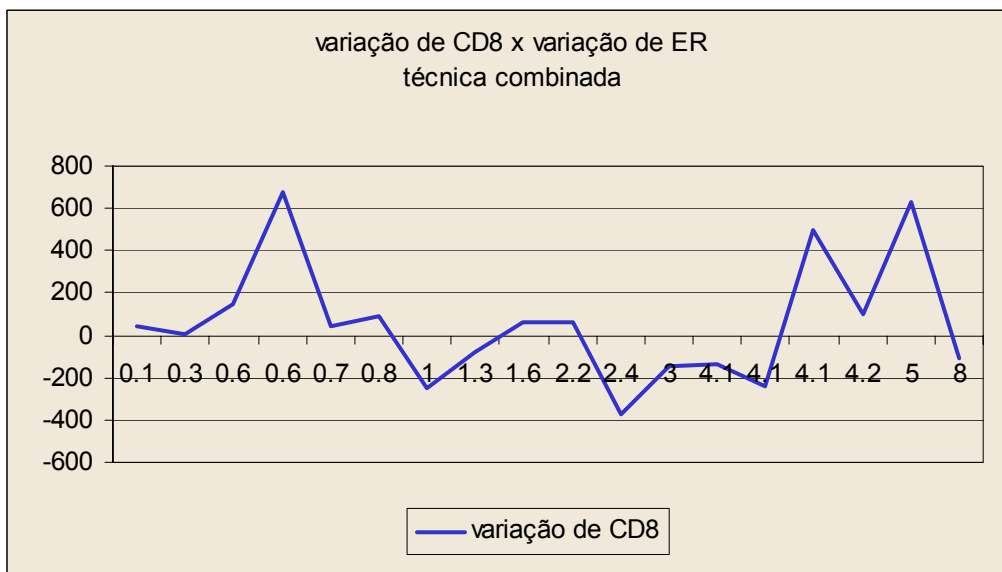


Figura nº 95 - Variação de CD8 e a variação de explosão respiratória, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de ER e diminuição de LT para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 96 - Variação de LT e a variação de explosão respiratória, no grupo G

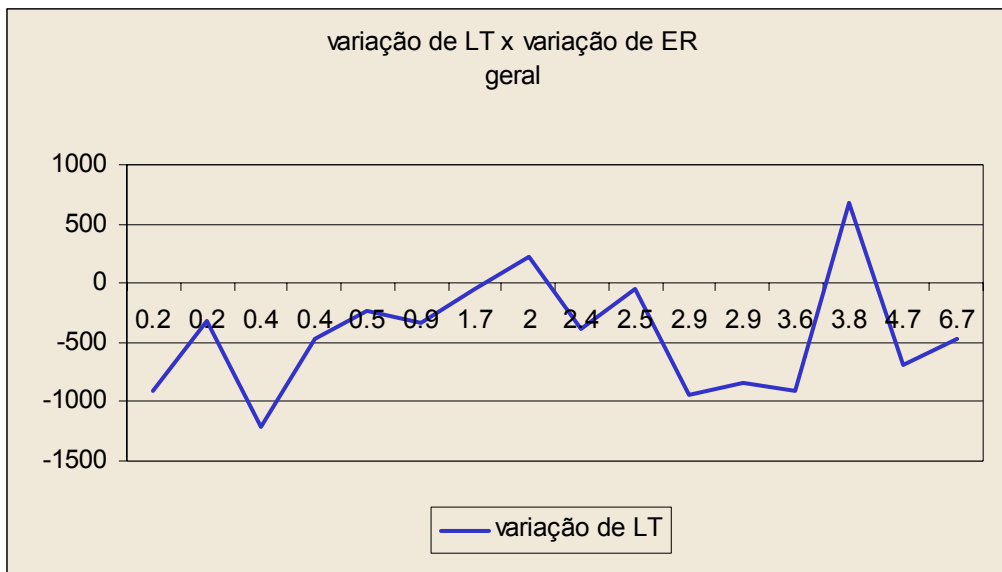


Figura nº 97 - Variação de LT e a variação de explosão respiratória, no grupo P

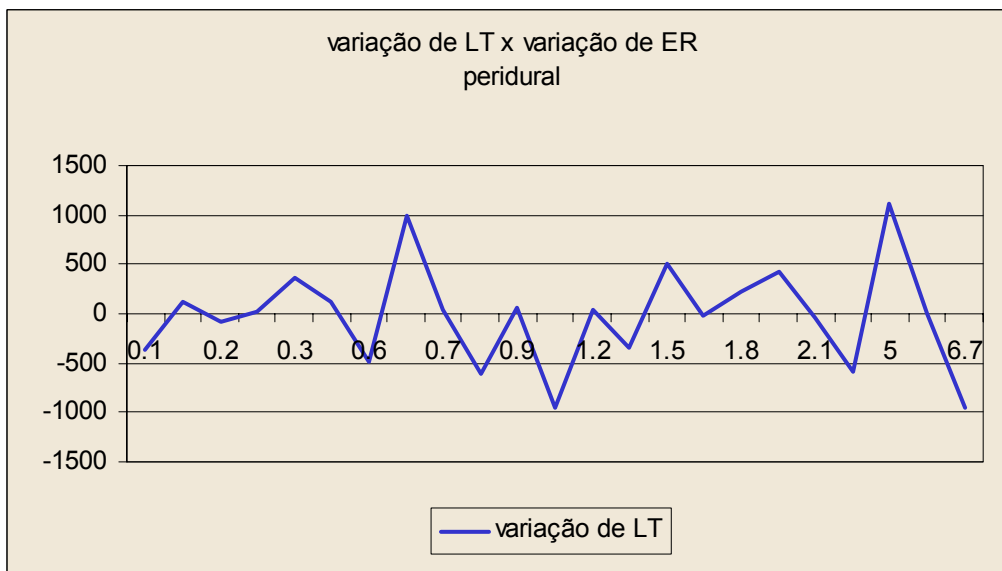
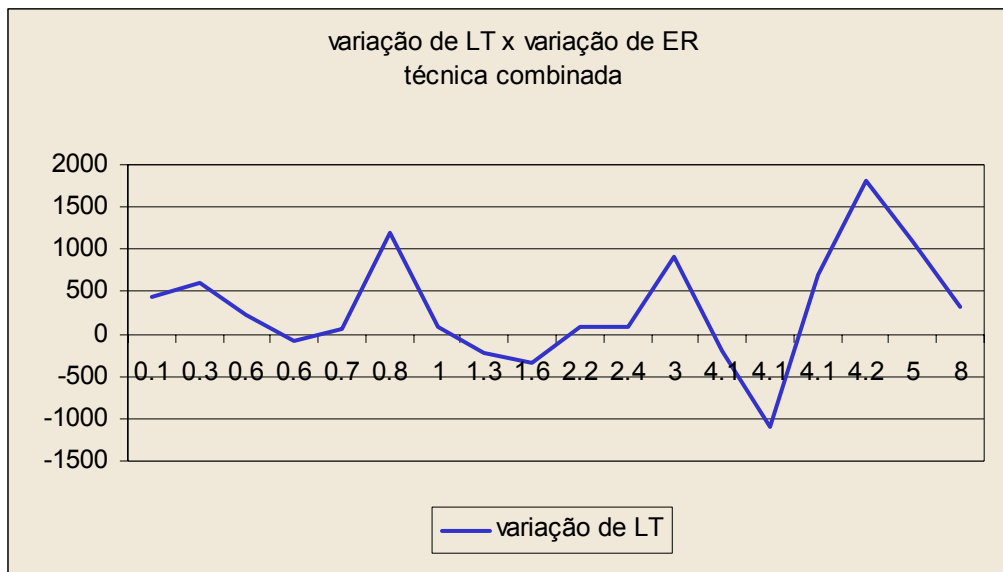


Figura nº 98 - Variação de LT e a variação de explosão respiratória, no grupo TC



Pode-se concluir que não há correlação entre aumento de ER e diminuição de LB para os grupos G, P e TC, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Figura nº 99 - Variação de LB e a variação de explosão respiratória, no grupo G

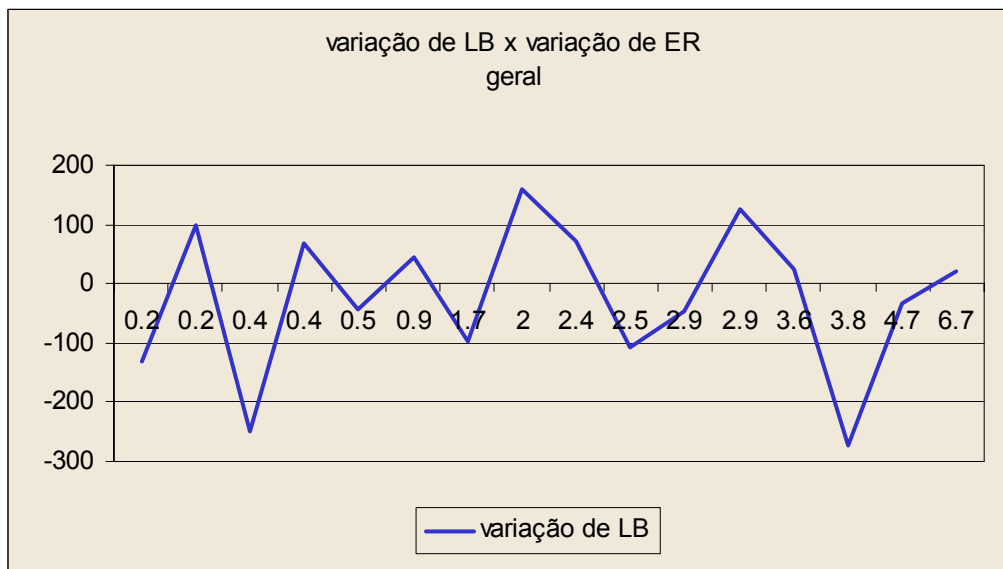


Figura nº 100 - Variação de LB e a variação de explosão respiratória, no grupo P

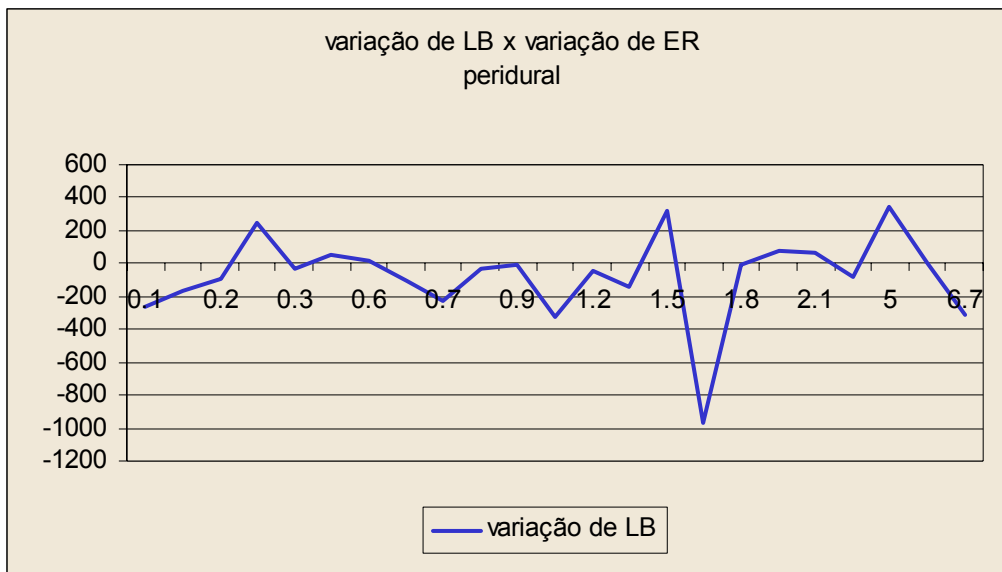
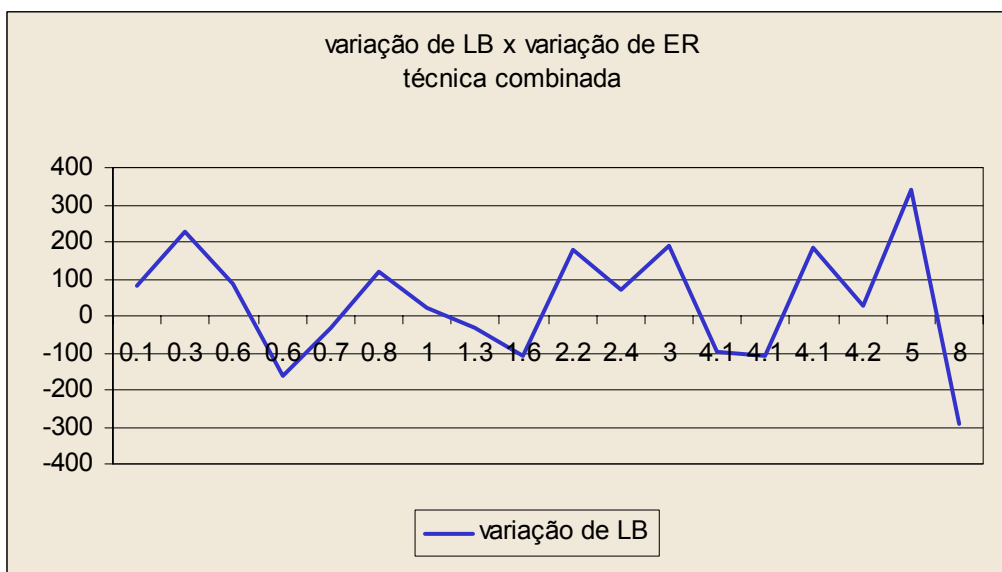


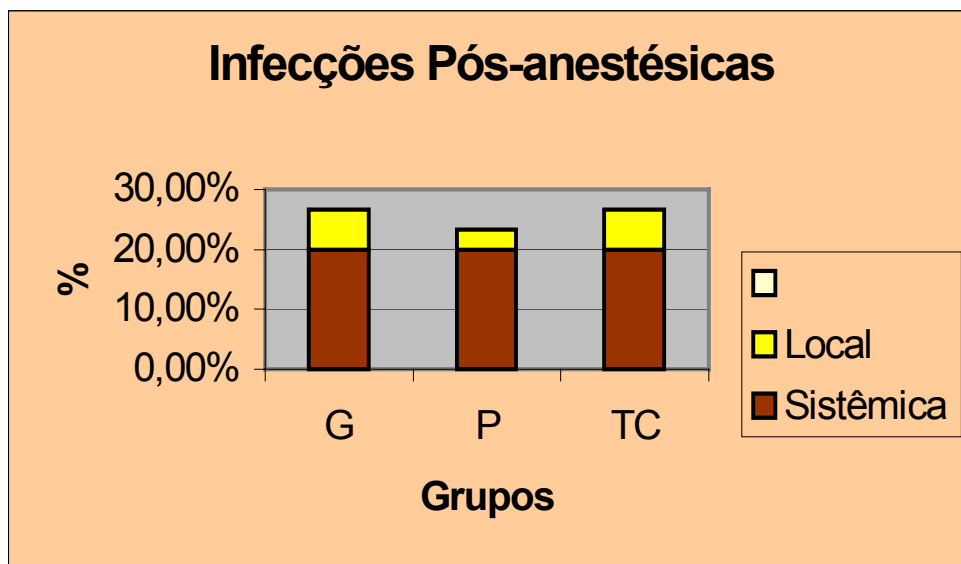
Figura nº101 - Variação de LB e a variação de explosão respiratória no grupo TC



Percentuais de infecções pós-anestésicas aferidas 14 dias após a intervenção. O grupo P apresentou menor percentual total de infecções 23,3% enquanto que os grupos G e TC apresentaram 26,7 cada.



Figura nº 102 - Percentual de Infecções sistêmicas e locais



## CAPÍTULO 7 - DISCUSSÃO

### 7.1 - Do Estudo Experimental

O rato Wistar (*Rattus norvegicus Albinus, Rodentia mammalia*) vive aproximadamente três anos, o equivalente a 90 anos no homem, sendo portanto viável criá-los em condições experimentais para estudos geriátricos. (Bivin et al., 1979) (Burek, 1980).

Este animal é escolhido para utilização em pesquisa biomédica por ser de fácil acomodação, manuseio, baixo custo de aquisição e manutenção, boa disponibilidade em nosso meio, bem como é dócil e apresenta elevada resistência à infecção e ao trauma cirúrgico (Carneiro, 1990) (Ferreira et al., 1998).

O camundongo e rato Wistar correspondem a 20% do número total de mamíferos usados com propósitos científicos. (Bivin et al., 1979) Tal como os humanos idosos (Signorini et al., 1993), os ratos Wistar idosos (24 meses) produzem mais Radicais Livres do que ratos jovens (6 meses) (Nohl et al., 1978) (Sawada et al., 1992) (Zenilman et al., 1994).

O ato anestésico-cirúrgico promove aumento dos Radicais Livres (Murphy et al., 1993).

A relevância do estudo experimental neste animal para compor parte desta tese, deve-se à necessidade de aferição das variáveis (LPH, e ER), somente com o ato anestésico, em comparação com o grupo controle, pois não há referências bibliográficas da ação da associação fentanil e propofol sobre as alterações dos Radicais Livres e da atividade fagocítica de ratos Wistar idosos.

Os estudos sobre os Radicais Livres e propofol, estão relacionadas a anestésias para cirurgias cardiovasculares, nas quais há o evento isquemia - reperfusão que é gerador de Radicais Livres. (Mc Cord, 1985) (Terada et al., 1991) (Tan et al., 1993) (Mathru et al., 1996) (Kokita et al., 1996).

A Explosão Respiratória não se alterou nos três grupos (H, A e C),

demonstrando que durante a vigência destas situações, a atividade fagocítica, através do aumento do consumo de oxigênio, permaneceu inalterada nos três grupos.

O método utilizado para mensuração dos lipoperóxidos nas hemácias é um método sensível para determinar a formação de Radicais Livres, dando plena validade interna aos resultados.

Quanto aos lipoperóxidos nas hemácias, observou-se que no grupo H há significativa redução de lipoperóxidos nas hemácias, em relação aos grupos A e C.

O resultado demonstrou que a anestesia promovida no grupo H (propofol) reduz a peroxidação lipídica, mesmo em ratos idosos.

As variáveis sexo e peso não foram incluídas pois, há estudos evidenciando que a explosão respiratória e os lipoperóxidos não sofrem alterações em condições anestésicas semelhantes. (Vaz et al., 1998)

O processo de envelhecimento nestes animais experimentais, manteve a resposta antioxidante a fármacos que promovam tal efeito (o propofol tem ação análoga ao alfa2 tocoferol ), permitindo uma opção de agente anestésico com fins hipnóticos, que reduza a ação deletérica da peroxidação lipídica, promovida pela idade, e que pode ser agravada pelo ato anestésico. (Green et al., 1994) (Kaharaman, et al., 1997) (Stratford et al., 1998).

Sabendo-se que a perfusão de propofol é usada não só com fins anestésicos para atos cirúrgicos, como também para hipnose em exames diagnósticos (ex. ressonância magnética), nos quais há necessidade de colaboração do investigado para que fique calmo e não se mexa durante o exame. O que muitas vezes não é possível, principalmente, em idosos demenciados, fazendo-se necessário o uso de hipnótico.

Nas unidades de terapia intensiva, é freqüente o uso de hipnóticos e muitos fármacos já foram propostos com este objetivo e abandonados, ou reduzido seu emprego, devido aos efeitos colaterais apresentados.

Os barbitúricos são um deles; devido à sua vida média plasmática elevada, potencialidade de promover instabilidade hemodinâmica e maior quantidade de interações com outros medicamentos, foi substituído por outros fármacos para tal fim. (Fragen, 1989)

Etomidato é um hipnótico venoso e quando usado por infusão por mais de 3 horas, determina inibição de enzimas adrenocorticais, que são necessárias para o metabolismo do colesterol em cortisol e aldosterona, não sendo seu uso mais recomendado para hipnose prolongada, pelo risco de insuficiência supra renal aguda (Fragen, 1989).

Atualmente, a preferência para hipnoses prolongadas recai sobre benzodiazepínicos e o propofol.

Os benzodiazepínicos não promovem ação antioxidante.

O propofol, por promover uma ação antioxidante em dose usuais (hipnóticas), reduz a gravidade da resposta sistêmica inflamatória, minimizando a possibilidade de falência múltipla de órgãos, assim como de lesões das membranas plasmáticas, lisossomiais e mitocôndrias, resultando em menor morbidade. (Stratford et al., 1998)

O propofol, por apresentar ação antioxidante *in vitro* e *in vivo*, resulta em benefícios a uma grande massa de usuários deste medicamento, reduzindo os potenciais conseqüências deletérias da lipoperoxidação lipídica. (Murphy et al., 1992) (Arts, 1995) (Stratford et al., 1998)

O grupo A (fentanil e propofol), não apresentou a mesma proteção antioxidante, assemelhando-se ao resultado do grupo C (sem medicamento), demonstrando que para promover anestesia para atos cirúrgicos, nos quais há necessidade de analgesia, não teríamos a ação antioxidante do propofol.

A resultante deste estudo, permite afirmar que, para as situações anestésicas que só requeiram hipnose, o propofol nas condições propostas, minimiza os possíveis agravos que o aumento da lipoperoxidação lipídica possa trazer.

## **7.2 - Do Estudo de Intervenção**

Um dos objetivos básicos da moderna medicina, é o conhecimento e avaliação do estado de defesa orgânica frente às agressões. O estado imunológico, tanto celular como humoral, desempenha um papel importante na evolução clínica do paciente e na mortalidade. (Coles et al., 1982) (Muriel et al., 1996a).

A influência do ato anestésico-cirúrgico (associado ou isolado), assim como terapêuticas medicamentosas (imunodepressoras), desnutrição e infecção prévias, são situações que devem ser estudadas como potenciais para o desenvolvimento de infecções e/ou agravamento das mesmas.

Ao estudar a influência das técnicas anestésicas, objetiva-se lograr uma redução das complicações secundárias do estresse oxidativo e suas conseqüências, assim como não interferir na resposta imune, principalmente nos mecanismos de defesa contra a infecção.

Os percentuais de infecções pós-operatórias, variam, segundo autores internacionais, entre 4,7 a 17,6% (Cruse et al., 1980), sendo que no Brasil é de 15,12%. (Santos, 1997)

Isto resulta num aumento da permanência hospitalar de 6 para 14 dias, custos adicionais por internação, além de aumentar a morbidade e mortalidade. Lacerda, em 1996, publicou que no Brasil, as infecções hospitalares atingiram níveis preocupantes, sendo a quarta causa de morte, ficando atrás das cardiopatias, gastroenterites e neoplasias. Afirmou ainda que "... a infecção hospitalar é apenas um pequeno sintoma, uma pontinha de um iceberg, maior que a crise de assistência médica brasileira..."<sup>1</sup>, tornando-se assunto relevante em Saúde Pública todos e quaisquer procedimentos que mantenham a resposta imunológica contra as infecções.

Nesta pesquisa, não se comparou idosos com jovens, pois há pesquisas que demonstram a ação do ato anestésico cirúrgico neste grupo etário, como causadora de alterações.

### Leucócitos Totais

No Grupo G, ocorreu leucopenia para todos os idosos deste grupo, houve alterações entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo a nível de significância de 0,01, sendo que é mais evidenciado no subgrupo, que apresenta-se no pré com nível acima de 8.000/ $\mu$ l.

---

<sup>1</sup> Lacerda, R.A; Jourdas V.M.G; Egry, E. Y. (In) A Face Iatrogênica do Hospital as demandas para o controle das infecções hospitalares. 1º Ed. São Paulo. Atheneu, 1996. Cap. Assistência Médica Conjuntura. 68-74 e seus Reflexos na Evolução da Ocorrência de Infecções Hospitalares, pag. 95.

No grupo P não houve alteração.

No grupo TC, houve alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, ao nível de significância de 0,05.

Foi evidenciado que no subgrupo pré-intervenção com níveis até 8.000/ $\mu$ l, há, maior tendência à leucocitose.

Os estudos prévios na literatura, em pacientes não idosos, com técnica anestésica geral (halotano, barbitúrio, óxido nitroso), revelaram leucocitose. (Walton, 1979) (Muriel et al., 1996b), sendo que estas respostas podem estar relacionadas ao aumento de catecolaminas.

### Leucócitos T ou Células T

Os linfócitos T desenvolvem-se no timo, que é um órgão colonizado por células-tronco da medula-óssea, durante o desenvolvimento embrionário e seu papel essencial consiste em recolher antígenos originários do interior das células do hospedeiro (endógenos).

Nos grupos P e TC não ocorreram modificações.

No grupo G, houve probabilidade de redução dos linfócitos T. Como estas células já tendem a reduzir com a idade (Wigle, 1993), é preocupante este resultado.

Estudo realizados em pacientes jovens, com idade entre 17 a 46 anos, (como doadores de rins), quando submetidos à anestesia geral (barbitúrico, fentanil e enflurano), e outro grupo, com anestesia geral denominada neuroleptoanalgesia tipo II (droperidol e fentanil) observou-se redução de linfócitos T, que iniciou 3 horas após a indução anestésica e permaneceu até 24 horas (Slade, 1975), (Pacheco et al., 1984), (Muriel et al., 1996), demonstrando que, mesmo em jovens, as técnicas de anestesia geral podem também reduzir os linfócitos T.

## Linfócitos B ou Células B

Os linfócitos B se desenvolvem no fígado fetal e, subsequentemente, na medula óssea; produzem, quando maduros, imunoglobulinas que atuam como receptores de antígenos. Estas células, mediante estímulos antigênicos, dividem-se e diferenciam-se em plasmócitos, que são o estágio final de diferenciação do linfócito B.

Os linfócitos B não sofrem alterações numéricas ou de função, nos idosos (Mac Lennan et al., 1994).

Nos grupos G, P e TC, não ocorreram alterações dos linfócitos B, nas intervenções anestésicas realizadas.

A anestesia geral obtida com fentanil, droperidol e enflurano ou isoflurano e fentanil, demonstraram não alterar os linfócitos B em adultos jovens, menos de 40 anos (Salo, 1997) (Pacheco et al., 1984).

## CD4

O CD4 é um linfócito T diferenciado pela presença de moléculas de superfície, identificadas por anticorpos monoclonais.

O CD4 é o receptor para MHC (complexo principal de histocompatibilidade de classe II). Estes receptores são constituídos de heterodímero e de inúmeros polipetídios associados, que estão envolvidos na transdução dos sinais e na ativação da célula T, assim como na apresentação do antígeno.

Não há, isoladamente, entre os grupos G, P e TC, alterações entre os resultados, porém, quando comparado os valores de CD4 entre os grupos G e TC, observam-se alterações com nível de significância de 0,05.

O grupo TC apresenta, pós-intervenção, uma tendência à manutenção ou discreto aumento, em relação ao grupo G.

## CD8

O CD8 também é uma diferenciação do linfócito T, sendo seu receptor de superfície, o MHC de classe I, sendo constituído de dois polipeptídios transmembrana, ligados por pontes dissulfetos que reagem com TCR (receptor de antígeno da célula T) e ligam-se a um sítio, no domínio alfa3 das moléculas MHC (de classe I) na célula alvo. Esta interação contribui para a estabilização do complexo de reconhecimento imune.

Nos grupos G, P e TC, antes e pós-intervenção, não houve alterações assim como intergrupos.

Nas técnicas empregadas não houve alteração do CD8, no entanto com técnicas de anestesia geral, (halotano ou enflurano), ocorre impedimento de diferenciação do linfócito T, acarretando redução de CD8 (Espada, 1995).

## Interleucina<sub>1</sub> beta

A fonte primária desta interleucina, são os monócitos no sangue e macrófagos nos tecidos; é um potente mediador da fase inflamatória aguda (ação pro-inflamatória).

Tem ainda ação como ativador de células T nos quais promovem a indução de expressão de receptores para IL<sub>2</sub> nos linfócitos T, portanto age como um co-estimulador na ativação celular.

Como o aumento IL<sub>1</sub> beta antecede a diferenciação de linfócitos T, é importante mensurá-la para detectar se haverá ou não diferenciação do linfócito T.

Os resultados encontrados nesta pesquisa, não evidenciaram influências das Técnicas G, P e TC nos níveis plasmáticos de IL<sub>1</sub>, pré e pós-intervenção, assim como entre os grupos.

Na vigência do ato anestésico-cirúrgico, há fatores que aumentam a liberação de interleucinas (ex. trauma cirúrgico), e há outros, como a anestesia, que, dependendo da técnica pode alterar a produção de citocinas, principalmente, as pró-inflamatórias (ex. IL<sub>1</sub> beta). (Crozier et al., 1994) (Pirttinkangas et al., 1995) (Gilliland et al., 1997)



Num estudo realizado por Gilliland et al., 1997, em mulheres entre 32-52 anos, ASA I ou II, para histerectomia abdominal, com a técnica anestésica geral, sendo um grupo (indução e manutenção da hipnose com propofol e analgesia com fentanil) e outro grupo (indução com propofol e manutenção com isoflurano), demonstrou que no grupo que recebeu apenas propofol e fentanil, houve aumento de IL<sub>10</sub>, que é uma citocina que inibe as pró-inflamatórias (IL<sub>1</sub>), e atenua a resposta sistêmica inflamatória ao insulto séptico. (Howard et al., 1993).

Em crianças, operadas de patologias intra-abdominais, não ocorreu aumento da IL<sub>1</sub> e IL<sub>6</sub>, com as técnicas combinadas e peridural (Halsen et al., 1998), assim como adultos não idosos, anestesiados com técnica geral (thionebutal, fentanil e isoflurano), não demonstraram alterações de IL<sub>1</sub>. (Brand et al., 1998)

Fármacos como o propofol, usados nas técnicas G e TC, têm promovido *in vitro*, liberação de IL<sub>10</sub>, que é antagonista das ações IL<sub>1</sub>, (Rossano et al., 1992), porém *in vivo* estes resultados foram mínimos. (Salo et al., 1997)

Todavia, houve no grupo G decréscimo de linfócitos T, o que poderia estar relacionado com o uso do propofol, que é um liberador da IL<sub>10</sub>, que inibiria a IL<sub>1</sub> beta de diferenciar os linfócitos T. No entanto o grupo TC, apesar de ter recebido o propofol, não houve alteração dos resultados da IL<sub>1</sub>, demonstrando que a ação do propofol pouco interfere com a IL<sub>1</sub>, como afirmou Salo, 1997.

## Interleucina<sub>2</sub>

A IL<sub>2</sub> é um polipetídeo glicosilado, produzido pelo CD4 ativado, que age de uma forma autócrina para promover o crescimento dos linfócitos T e NK. Os linfócitos T respondem ao IL<sub>2</sub> através da união ao receptor de alta afinidade.

O IL<sub>2</sub> é detectável no soro ou plasma de pessoas saudáveis, enquanto que os níveis elevados de IL<sub>2</sub> são encontrados em pessoas portadoras de vasculite e escleroderma. (Robb, 1984) (Grau, 1989)

O idoso tem mudanças na produção e resposta da IL<sub>2</sub> (Mac Lennan et al., 1994).

No estudo realizado por Brand et al., em 1998, em pacientes adultos, anestesiados, com a técnica geral (thiopental, isoflurano e fentanil) estimulou – se os mesmos com diferentes células mitogênicas (ex: vírus inativado da doença de Newcastle e fitohemaglutina), e observou-se aumento de IL<sub>2</sub> após a anestesia.

Catania et al., 1997 descreveu que idosos internados em unidades de terapia intensiva e estimulados com fitohemaglutina não apresentaram aumento da IL<sub>2</sub>.

Nos grupos G e P, houve pequena variação de valores da IL<sub>2</sub> (n=5) e (n=1), não sendo possível realizar teste estatístico.

No grupo TC, não houve alteração entre as medidas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05, podendo-se apenas afirmar que neste estudo não houve variações para o grupo TC.

### Explosão Respiratória

Durante a fagocitose, há formação de RLs que amplificarão a atividade microbida dos fagócitos. Detecta-se a atividade funcional dos leucócitos através da captação dos fótons, emitidos durante a fagocitose (fenômeno denominado explosão respiratória). Os fótons são medidos através de um luminômetro ou contador beta.

No grupo G, não há alterações entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

No entanto, os grupos P e TC, apresentaram alterações de medidas realizadas antes e após a intervenção, a nível de 0,05, mas não a nível de 0,01. Houve tendência ao aumento de E.R., sugerindo uma hiperfagocitose, podendo originar aumento de Radicais Livres, séricos.

Quando analisamos a correlação inter-grupos, pré e pós-intervenção, e o aumento do índice de explosão respiratória, não houve significância a nível de 0,01.

## Radicais Livres

Esta técnica nos indica o grau de estresse oxidativo dos tecidos. Quando ocorre aumento de RLs, aumenta os Radicais Livres.

Nesta pesquisa, o método de mensuração foi plasmático e não tecidual.

No grupo G, P e TC houve uma subdivisão, de acordo com valores de Radicais Livres detectados: no pré-anestésico, abaixo de 400.000 cpm (dentro da normalidade); no pós-anestésico, apresentou aumento deste valor, ao nível de significância de 0,01.

Em todos os grupos, quando os valores do pré-anestésico estavam acima de 400.000 cpm, no pós-anestésico não houve alteração, mesmo ao nível de significância de 0,05. Demonstrando que não há agravamento do estresse oxidativo

## Lipoperóxidos nas Hemácias (LPH)

Os peróxidos lipídicos são altamente deletérios, já que sua fonte principal é a própria membrana celular, que, agredida pelos metabólicos tóxicos de oxigênio, ao nível dos ácidos graxos poliinsaturados, que formam esta membrana, determina alterações na semi-permeabilidade das membranas celulares. Isto favorece a ruptura, necrose e atrofiamento das células.

No estudo experimental com ratos Wistar idosos, houve melhor resultado, ou seja, menor produção de LPH no grupo que recebeu propofol (grupo H).

No entanto este estudo é ausente de trauma cirúrgico.

No grupo G, P e TC não houve alteração entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05, assim como nos resultados intergrupos.

Mesmo no grupo que não recebeu fármaco antioxidante, como o grupo P, não houve alterações do LPH, resultando que nos grupos estudados não há potencialidade de lesão peroxidativas.

## Cortisol

Os valores do cortisol são preservados com o avançar da idade, assim como, a variação circadiana (Rocha et al., 1997)

Quando não há adequada analgesia ou hipnose, pode ocorrer uma liberação de hormônios adaptativos ao estresse, dentre eles o cortisol.

No grupo G, houve alterações entre as medidas realizadas antes e após a intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,01, enquanto que nos grupos P e TC não ocorreram alterações nas medidas antes e pós-intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,05.

Intergrupos também não apresentou diferenças significativas.

A elevação do cortisol plásmatico determina ação imunodepressora, podendo ocasionar leucopenia .

O grupo G apresentou elevação do cortisol e leucopenia .

## Resultados da incidência de Infecção Local e Sistêmica

Decorridos 14 dias das intervenções anestésicas, constatou-se o seguinte percentual de infecção: no grupo G, 26,7% dos idosos, apresentaram infecções, sendo que, 6,7%no local operado e 20%, sistêmica (resfriado, pneumonia bacteriana, infecção urinária, apesar de não terem sido submetidos a cateterização vesical); no grupo P, 23,3% apresentaram infecções, sendo, 13,3 % local e 20% sistêmica (resfriados, gripe, pneumonia) e, no grupo TC, 26,7% apresentaram infecções, sendo 6,7 % local e 20% sistêmica (pneumonia, resfriado e gripe).

### **7.3 - Das Correlações**

Analisando-se as correlações promovidas pelo estresse adaptativo e o oxidativo: nos resultados dos grupos G e TC, não há correlação entre as variações do cortisol com as alterações de LPH, ER e Radicais Livres, ao nível de significância de 0,05.

No grupo P, há correlação entre o aumento do cortisol e a formação de RLs mensurados pelos métodos de Radicais Livres e ER.

Analisando-se as correlações promovidas pelo estresse oxidativo e a resposta imune.

Não há correlação entre o aumento dos LPH e decréscimo de IL<sub>1</sub> beta, IL<sub>2</sub>, CD4, CD8, LT e LB, ao nível de significância de 0,05, nos três grupos estudados.

Há correlação entre o aumento de Radicais Livres e diminuição de CD8 para o grupo P, ao nível de significância de 0,05, mas não ao nível de significância de 0,01.

No grupo TC, há correlação entre aumento de Radicais Livres e diminuição de CD4, ao nível de significância de 0,05, assim como há correlação entre o aumento de Radicais Livres e diminuição de LB neste grupo, ao nível de 0,05.

Só houve correlação entre aumento de ER e diminuição de IL<sub>1</sub>beta, para o grupo TC, a nível de significância de 0,05; este resultado poderia influenciar na diferenciação dos linfócitos T.

Correlação entre o aumento de explosão respiratória e decréscimo de IL<sub>1</sub> beta, IL<sub>2</sub>, CD4, CD8, LT e LB, nos grupos G e P, não ocorreu.

## CAPÍTULO 8 - CONCLUSÃO

Estes dois estudos propiciaram o levantamento de dados importantes sobre a resposta imunológica do idoso e do grau de estresse oxidativo na vigência a ato anestésico ou em consequência dele.

Os estudos na literatura médica indicam que há alterações na resposta imune pós ato anestésico.

No entanto, num enfoque sobre resposta imune, anestesia e Radicais Livres no idoso, não encontrou-se referência.

A proposta da pesquisa experimental foi alcançada pois detectou-se que as alterações lipoperoxidativas são reduzidas quando há o emprego apenas de propofol, (grupo H), além de ter sido verificado que os ratos Wistar idosos foram capazes de reduzir seu estresse oxidativo com um fármaco como o propofol, que tem ação secundária como antioxidante, demonstrando que o sistema antioxidante endógeno quando reforçado de sua ação antioxidante, reduziu a peroxidação lipídica não tendo sido alterada em nenhum grupo a capacidade fagocítica (explosão respiratória).

Na premência em obtermos dados consistentes sobre as técnicas anestésicas e a resposta imunológica do idoso, não poderíamos restringir o estudo apenas a atividade fagocítica, evidenciada de forma indireta pela explosão respiratória.

Buscando o aprofundamento dos dados do estudo experimental, iniciou-se o estudo de intervenção, no qual o número de variáveis para mensuração da resposta imune e do estresse oxidativo foram maiores.

O estudo de intervenção demonstrou, dentre as técnicas estudadas, que o grupo G (geral) sofreu maiores alterações entre as medidas pré e pós-intervenção, mesmo ao nível de significância de 0,01. Houve leucopenia, principalmente nos que apresentavam-se acima de 8000  $\mu$ l no período pré-intervenção. O linfócito T reduziu-se no período pós-intervenção, apresentando decaimento mais acentuado da população dos linfócitos T nos idosos, que já sofrem redução pelo processo de envelhecimento.

O cortisol, o hormônio que escolheu-se para demonstrar o estresse adaptativo, aumentou neste grupo.

Houve aumento dos Radicais Livres após a intervenção naqueles que estavam com níveis abaixo de 400.000 CPM na pré-intervenção.

No entanto não ocorreu aumento da lipoperoxidação lipídica, ou da explosão respiratória.

No grupo P (peridural), houve aumento de Radicais Livres (quimioluminescência e da explosão respiratória), sendo que nestes aumentos não houve, influência na resposta imune, assim como no cortisol plasmático.

No grupo TC (técnica combinada), constatou-se aumento dos leucócitos totais, principalmente nos que já apresentavam leucocitose prévia; houve aumento da explosão respiratória e dos Radicais Livres. Não houve alteração de cortisol.

A interleucina<sub>1</sub> beta não apresentou alterações nas técnicas empregadas.

A interleucina<sub>2</sub>, desperta especial interesse, por ser uma citoquina que encontra-se reduzida no processo de envelhecimento, não apresentou, nos grupos G e P, variações no pré e pós-intervenção, que possibilitassem conclusões.

No entanto, o grupo TC, não apresentou variação entre as medidas pré e pós-intervenção desta interleucina.

Há correlações entre o aumento de Radicais Livres e o decréscimo CD8; sendo evidenciado no grupo P e o decréscimo de CD4 e LB no grupo TC.

Há correlação entre o aumento da interleucina<sub>1</sub> beta no grupo TC.

Não houve correlações entre as medidas de lipoperóxidos nas hemácias e as variáveis estudadas.

Identificou-se que o grupo P desenvolveu um percentual de 23,3% de infecções, quer sejam sistêmica ou local, após 14 dias de intervenção contra 26,7% dos grupos G e TC.

Neste estudo, o grupo P apresentou menor influência na resposta imune e desenvolveu menor percentual de infecção, apesar de ter tido aumento de Radicais Livres e da explosão respiratória.

É fundamental otimizar resultados que reduzam a infecção, sendo esta uma questão tão relevante em Saúde Pública.

O ato anestésico, dependendo da técnica, poderá influenciar na resposta imune e acarretar conseqüências na saúde do idoso, como este estudo demonstrou.



## **CAPÍTULO 9 - RECOMENDAÇÕES**

Para que ocorra uma inovação na assistência anestesiológica, em relação ao conhecimento da Imunologia e Oxidologia como fundamentos para menor influência de técnicas anestésicas na resposta imunológica do idoso, recomenda-se:

1. que os cursos de graduação e pós-graduação em medicina, aloquem um maior número de horas-aulas, teóricas e práticas, de Anestesiologia, Geriatria e Patologia Clínica, que enfoquem as influências de procedimentos médicos envolvendo as três especialidades;
2. que as disciplinas tenham sempre caráter inter-disciplinar;
3. que os serviços de saúde tenham condições adequadas, para que os profissionais possam colocar em prática as medidas básicas para verificar possíveis alterações da imunidade;
4. que as comissões de controle da infecção hospitalar, incluam em seus questionários técnicas e agentes anestésicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, A. K.** A reassessment of the mechanisms of antigen specific T cell dependent B-cell activation. Immunol. Today, 9: 89, 1988.
- ALLAN, I. M.;** Lunec J.; Salmon M.; Bacon P. A . Reactive oxygen species selectly deplete T. lymphocytes via a hidroxyl radical dependent mechanisms. Scand J. Immunol., 26: 47 - 53, 1987.
- AMERICAN SOCIETY OF ANESTHESIOLOGY** - New classification of physical status. Anesthesiology, 24: 111 - 116, 1963.
- ANISMAN, H.;** Baines, I.; Berczi I.; Neuroimmune mechanisms in health and disease: 2 Disease. Can. Med Assoc. J., 155: 1975 – 1082, 1996.
- ANTONACI, S.** Jirillo, E.; Lucivero, G et al. Humoral immune response in aged humans: Suppressor effect of monocytes on spontaneous plaque forming cell generation. Clin. Exp. Immunol, 52: 387 - 392, 1983.
- ANZOLA – PEREZ, E.** Ageing in Latin American and the Caribbean – In Toward The Well-being of the Elderly, Pan American Health Organization Scientif. Publication 492, 1985,9 p.
- AREND, W. P.** - Interleukin - 1 receptor antagonist. Adv. Immunol, 54: 167 - 227, 1993.
- ARTS L,** Van Der Hee R, Dekker I, Langermeijer H, Bast A. The Widely Used Anesthetic Agent Propofol Can Replace Alpha-tocopherol as an Antioxidant FEBS letters, 357: 83-85; 1995.
- AUERBACK, R.** Morphogenetic Interactions in the development of mouse thymus gland. Develop. Biol., 2: 271, 1960.
- AYERS J.;** Houton M. J. Postoperative complications in patients with human immunodeficiency virus disease. Chest, 103: 1.800 – 1.807, 1993.
- BABIOR, B. M.** Oxygen – dependent microbial killing by phagocytes. N. Engl. J. Med., 298: 654 – 725, 1978.
- BADEN, J. M.;** Rice S. A. Metabolism and toxicity. In Miller R. D. ed. Anesthesia – New York: Churchill Livingstone, 1990, 135 – 170 p.
- BARDOSI, L.;** Bardosi A. Gabius, J.H. Changer of expression of endogenous receptor by polymorphonuclear leukocytes after prolonged anesthesia and surgery. Can. J. Anesth, 39: (2), 143 – 150, 1992.

- BARONI, C. D.;** Valtieri, M.; Stoppacciaro, A; Ruco, L. P.; Uccini S and Ricci, C. The human thymus in ageing: histologic involution paralleled by increased mitogen response and by enrichment of O K T<sub>3</sub> lymphocytes. Immunology, 50: 519, 1983.
- BARRET, D. J.;** Stenmark, S. Wara; D. W. et al. Immunoregulation in aged humans. Clin. Immunol. Immunopathol, 17: 203 - 211, 1980.
- BARTH, J.;** Petermann, W.; Entzian, P.; Weestrow, C.; Weestrow J. Ohnharus E. E. Modulation of oxygen – free radicals from human leucocytes during halotane and enflurane – induced general anaesthesia. Acta Anaesthesiol Scand, 31: 740 – 743, 1987.
- BARUCHEL, S.;** Bounous, G.; Gold P.; Place for an antioxidant therapy in human immunodeficiency virus (HIV) infection. In: Pasquier C. Oxidative Stress. Cell Activation and Viral Infection. Birkhauser - Verlag Basel: 311 - 321, 1994.
- BASCH, R. S.;** Kadish, J. L.; Goldstein, G. Hematopoietic thymocyte precursors – IV. Enrichment of precursors and evidence for heterogeneity. J.Exp. Med. 147: 1843, 1978.
- BEAVOIR S. A Velhice** Tradução de Maria Helena Franco Monteiro. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1990.
- BEILIN, B.;** Shavit – Y.; Hart – J.; Mordashov, B. Effects of anesthesia based on large versus small doses of fentanyl on natural killer cell cytotoxicity in the perioperative period. Anesth – Analg., 82 (3): 492 – 497, 1996.
- BERCZI, I.;** The stress concept and neuroimmunoregulation in modern biology. Ann N Y Acad Sci, vol. 851: 3 - 10, 1998.
- BERENBAUM, M. C.;** Fluck, P. A. e Hurst, N. P. Depression of lymphocyte responses after surgical trauma. British Journal of Experimental Pathology, 54: 597, 1973.
- BHAGWAT, V. R.** Relationship of erythrocyte superoxide desmutase, serum lipid peroxide and age. Indian J. Med. Sci, 51 (2): 45 – 51, 1997.
- BIVIN, W.S.;** Crawford, M.P.; Brewer, N.R.; Weesbroth, S.H. (Eds) The Laboratory rat. New York, Academic Press, 1979, 73-103 p.
- BONGRAND P.,** Bartolin, R, Bouvenot, G.; Arnoud C.; Delboy C. and Depieds, R. Effect of age on different receptors and function of phagocytic cells, J. Clin. Lab. Immunol, 15: 45, 1984.
- BOYD, E. M.** Post-anesthetic leucocytosis. Can. Med. Assoc. J., 31: 159, 1936.

- BRAND, J.M.;** Kurchner, H.; Poppe, C.; Schucker, P. Cytokine release and changes in mononuclear cells in peripheral blood under the influence of general anesthesia. Anesthesia ,47:(5) –379 – 86, 1998.
- BRASIL,** Conselho Federal de Medicina (1993) Resolução nº 1363. Diário Oficial. 22 de março de 1993. pg. 3439.
- BRASIL,** Conselho Nacional de Saúde (1996) Resolução nº 196. Diário Oficial.
- BRASIL, Ministério da Saúde.** Secretaria Nacional e Desenvolvimento de Serviço da Saúde. Controle de Infecção Hospitalar um Marco Conceitual na Assistência Hospitalar. Revista de Controle da Infecção Hospitalar, Brasília, nº 1: 3 - 4, ago, 1994.
- BRETCHER, P.;** Cohn, M. A theory of self-nonsel discrimination. Paralysis and induction involve the recognition of one and two determinants on an antigen respectively. Science, 169: 1942, 1970.
- BRIEVA, J. A;** Roldan, E.; De La Sem, M. I. Human in vivo - induced spontaneous IgG - secreting cells from tonsil, blood and bone marrow exhibit different phenotype and functional level of maturation. Immunology, 72: 580, 1991.
- BROCK, M.** et al. Biology of microorganisms. 7Th Ed. New Jersey: Prentice - Hall, 1994. 909 p.
- BROMAGE, P.,** Epidural Analgesia. Philadelphia, Saunders Company, 1978, 1p.
- BROOKS, D.J.;** Travers, M.; Wooding, S.; Ahmedzai, S.; Abstract presented at the pain mechanisms and management meeting, Liverpool, September, 1995. 22-28p.
- BRUCE D. L.,** Lin H. S.; Bruce W. R. Effects of anaesthetics in the response of normal and abnormal bone marrow cells to cytotoxic drugs. En: Fenk, Br. Ed. Cellular biology and toxicity of anaesthetics. Baltimore, Williams and Wilkins, 1972,251 p.
- BRUCE, D. L.** Effect of halothane anesthesia on experimental salmonella peritonitis in mice. J. Surg. Res, 7: 180, 1967.
- BRUCE, D.L.;** Koepke, J.A. Change in granulopoiesis in the rat associated with prolonged halothane anesthesia. Anesthesiology, 27: 811-816, 1986.
- BRULL, S. J.** Choice of regional versus. General anesthesia In Mc Leskey C. H. Geriatric Anesthesiology. Baltimore, Williams e Wilkins Company, 1997. 361-366 p.

- BRYSON, H. M.;** Fulton B. R.; Faulds, D. Propofol. An update of its use in anaesthesia and conscious sedation. Drugs, 50: 513 – 559, 1995.
- BUREK, J. D.** e Hollander, C. F. Experimental Gerontology. In: The Laboratory Rat, 1980, New York, Academic Press, 1980, 150 p.
- BURTON, G. R. W.** Microbiology for the health sciences, 4<sup>th</sup> Ed., Washington: Company, 1992. 413 p.
- BUTTLER, R. N.** Rational use of broad-spectrum antibiotics in the elderly. Geriatrics, 49 (1): 5 - 16, 1994.
- BUZBY, G. P.;** Mullen, J. L.; Mathews; D. C.; Hobbs, C. L. and Rosato, E. F. Prognostic Nutritional index in gastrointestinal surgery. Am. J. Surg., 139: 160 - 167, 1980.
- CANGUILHEM, G.** O normal e o Patológico – Rio de Janeiro – Ed. Forense Universitária, 1978 , 270 p.
- CARNEIRO, P.C.A.** – Efeito da quimioterapia antineoplásia com cisplatina cistiaminodichloroplatina – II) na cicatrização de anastomoses do intestino delgado estudo experimental em ratos. Rio de Janeiro, U.F.R.J. , 1990 – 140 p. (Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Rio de Janeiro).
- CARP H. J.;** Toder V.; Mashiach, S. et al. Recurrent miscarriage: a review of current concepts, immune mechanisms and results of treatment. Obstet. Gynecol Surv., 45: 657 – 669, 1990.
- CARRERA, J. A.;** Catala, J.; Monedero P.; Hidalgo. Comparison of the effects of isoflurane and alfentanil on the mononuclear – phagocyte system. Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim., 40 ( 1): 3 – 8, 1993.
- CATANIA, A.;** Airaghi, L, Motta – P; Manfredi, M.G ; Ammoni – G, Pittenati, C., Bramhilla, F., Lipton J.N. Cytokine antagonists in aged subjects and their reaction with cellular immunity. J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci.; 52: 1393 – 7, 1997.
- CATTANEO A. D.,** Indiveri F.; Launo C. et al. Inquinamento delle sale operatorie con gas e vapori anestetici. Acta Anesthesiol Italica, 36: 673, 1985.
- CHANDRA, R. K.** Nutrition, immunity and infection: present knowledge and future directions. Lancet, 26: 688 - 691, 1983.
- CHANDRA, R. K.** The relation between immunological nutrition in elderly people. Age Aging, 19: 25 - 31, 1989.

- CINADAR, B.** Aging and the immune system, in Encyclopedia of Immunology, Roitt, I. M. and Delver, P. J. Eds. Academic Press, San Diego, 1992 45p.
- CLARK, W. R.;** Prevention of anesthesia – induced immuno-supression: a novel strategy involving interferons. Anesthesiology; 78: (4) 627 – 628, 1993.
- CLOZIER T. A.;** Beeck D.; Scherff - Werner P.; Kettlei D. Changes in expression of lymphocyte surface marken following administration of etomidate, midazolam or methohexital. Anesthesiology, 36: 692, 1987.
- CEUPPEN, J. L.** and Goodwin J. S. Regulation of immunoglobulin production in pokweed mitogen - stimulated cultures of lymphocytes from young and old adults. J. Immunol., 128: 2.424 - 2.434, 1982.
- COHEN, G.** Changes in immunoglobulin levels after sugical trauma. J. Trauma, 12: 149 - 153, 1972.
- COLES, B.,** Van Heerden, J.A, Key, T.F, Haldorson, Incidence of wound infection common general surgical procedures. Surg Gynecol Obstet, 154: 557 - 560, 1982.
- COLLINS, V. J.** Principles of Anesthesiology: general and regional anesthesia. Philadelphia, Lea e Febiger, 1993,315 – 354p.
- CONOLLY, W. B. ;** Hunt, T. K., Sonne, M. and Dunphy, J. E. Influence of distant trauma on local wound infection. Surg. Gynecol. Obstet, 128: 713, 1969.
- CORD J. M.** Fridovich I. Superoxide désmutase - An enzymatic function for esythocypreen J. Biol. Chem., 244: 6.049 - 6.055, 1969.
- CORDIER, A. C.;** Haumont, S. J. Development of thymus, parathyroid and ultimobronchial bodies in NMRI and nude mice. Am. J. Anatomy, 157: 227, 1980.
- COVINO, B. G.** Pharmacology of local anesthetic agents, Br. J. Anaesth, 58: 701, 1986.
- COVINO, BENJAMIM;** Bruce Scott. Handbook of Epidural Anaesthesia and Analgesia. Orlando Grune e Stratton. 1985, 9 – 33p.
- CPNEMB.** Capacitação de Pessoal de Níveis Elementares e Médios em Biotérios. Departamento de Biotérios/Biomanguinhos. Rio de Janeiro: 1994. p.62.
- CRONE, L. A.;** Conly J. M. Herpes laibalis in parturients receiving epidural morphine following cesarium section. Anesthesiology, 73: 208 – 213,1993.

- CRONE, L. A.;** Conly M. J. and col. Herpes labialis in parturients receiving epidural morphine. Following cesarian section. Anesthesiology; 72: (2) 208 – 213, 1990.
- CRONE, L. A.;** Conly J. M. Recurrent herpes simple virus labialis and the use of epidural morphine in obstetric patient. Anesth. Analg., 67: 318-123, 1998.
- CROZIER, T.A ,** Muller, J.E , Quittkat, D. Effect of anesthesia on the cytokine responser to abdominal surgery. Br. J. Anesth; 72: 280 – 285, 1994.
- CRUSE, P. J. E. e** Foord, R. Epidemiologia da infecção das feridas. Estudo prospectivo de 10 anos de 62939 feridas. Clin. Cir. Am. Norte, 60: 24 - 40, 1980.
- CRUSE, P. J. E.;** Food R. A five-year prospective study of 23, 649 surgical wounds. Arch Surg, 107: 206 – 209, 1973.
- CULLEN B. F.;** Van Belle G. Lymphocyte transformation and changes in leukocyte count: Effects of anesthesia and operation. Anesthesiology; 43: 365 – 369, 1975.
- CUTLER, R. G.;** Packer, L; Butrans, J e Mori A. Oxidative Stress and Aging. Birkhauser Verlag; Switzerland, 1995.
- DAVIDSON, A . I. G.;** Clark, C. and Smith, G. Postoperative wound infection: a computer analysis. Br. J. Surg., 58, 333, 1971.
- DAYMER R. A.;** Dundly D. J, Araneo B. A.: Regulation of murine lymphocyte production in vivo. Dehydroepiandrosterone is a natural enhancer of. Interleukin<sub>2</sub> synthesis by helper T cells. Eur J. Immunol 20: 793, 1990.
- DE GREY, A. D.** A proposed refinement of the mitochondrial free radical theory of aging. Bioessays, 19 (2): 161 – 6, 1997.
- DELAFUENTE, J. C.** Dlesk A., Panush R. S. Cellular immunity. In Panush, R. S. (ed): Principles of Reumatic Diseases. New York, John Wiley and Sons, 1981.
- DELFRAISSY, J. F.,** Galanared, P. Wallon, c. et al. Abolished in vitro antibody response in elderly: Exclusive involvement of prostaglandin - induced T suppressor cells. Clin. Immunol. Immunopathol. 24: 377 - 385, 1982.
- DELOGU G.;** Casulo M. A. et al. Influenza di due differenti regimi di anestesia sui lingociti T e sulle sottopopolazioni T helper e T - suppressor valutatti atraverso l'imprego degli anticorpi monoclonali. Acta Anesthesiol Italica; 40: 227, 1989.

- DELONGUE G.;** Realce G.; Realce G. et al. Concentrazione plasmatica del recettore solubile dell'interleucina 2 durati e dopo chirurgia maggiore in NLA II anestesia. Acta Anaesthesiol Ital, 41: 427, 1990.
- DINARELLO, C. A.** Role of Interleukin - 1 in Infections Diseases Immunol. Reviews, 127: 119 - 145, 1992.
- DINARELLO, C. A.** Woeff, S. M. The Role of Interleukin - 1 in Disease N. Engl. J. Med., 328: 106 - 13, 1993.
- DOUGHERTY, T. F.** e Frank, J. A . The quantitative and qualitative responses of blood lymphocytes to stress stimule. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 42: 530, 1953.
- DUCAN, P. G.;** Cullen, B. F. Anesthesiology and immunology. Anesthesiology, 45: 522 – 538, 1976.
- DUKE, J.;** Rosemberg, Stuart. Segredos em Anestesiologia. Porto Alegre, medsi 1997. 542 – 550p.
- ECK, H. P.** Greender H.; Hartman, M. Petzold, D.; Daniel V.; and Dioge, W. Low concentration of acid soluble thiol (cysteine) in the blood plasma of HIV - 1 infected patients. Bio Chem, 370: 101, 1989.
- ESTERBAUER, H.R.J.** Schaur e H. Zollner Chemistry and Biochemistry of 4 Hydroxynoneal, Malondial Pihyde and Related all the Hydes Free Radical Biol. Med. 11: 81-128; 1991.
- EGER, E.I. II.** Inhaled anesthetic: past, present and future. International Anesthetic Research Society, 1998. Review Course Lecture, Cleveland, 101 – 104.
- ERIKSSON O.;** Pollesello P. Saris N. E. Inhibition of lipid peroxidation in isolated rat lever mitochondria by the general anaesthetic propofol. Biochem Pharmacol, 22:42 (2) p. 391-3; 1992.
- ERSHLER, W. B.** The influence of aging and imune system on cancer incidence and progression; J. Gerontol. Biol. Sci, 48, B3, 1993.
- ERSKINE, R.;** Janicki, P. K.; Neil, G.; James, M. F. Spinal anaesthesia but not general anaesthesia enhances neutrophil biocidal activity in hip arthroplasty patients. Can. J. Anaesth, 41 (7): 632 – 638, 1994.
- ESKOLA, J.;** Salo, M; Viljanem K. Impaired B lymphocyte function during open – heart surgery. Effects of anaesthesia and surgery. Br. J. Anaesth, 56: 333 – 336, 1984.



- ERNESTEDE, L.**, Biochemistry of reoxy generation injury. Critcare Med, 16 (10) 947; 1988.
- ESPADA, EB.**, Auler Jr. J. O. C. Anestesia no paciente com síndrome de insuficiência de múltiplos órgãos e sistemas. Rev. Bras. Anesthesiol; 45: 1:57 - 64, 1995.
- FAULKNER, W. R.**; Mutes, S. Geriatrics Clinical Chemistry American Association of Clinical Chemistry Inc. Washington DC, 1994.
- FERREIRA, M.M.A** ; Carneiro, P.C.A . Aspectos Morfológicos do cólon de ratos. Wistar, Revista de Gastroenterologia, 36 (1): 6 – 8, 1998.
- FIELDING, R. A.** Exercise, free radical generation and aging. Aging – milano, 9 (1-2): 12 – 8, 1997.
- FILLIT, H.** Clinical immunology of aging. Rew. Clin.Gerontology, 4: 187 - 197, 1984.
- FLEISCHER B.** Activation of human T lymphocytes. Requirements for mitogen induced proliferation of antigen – specific T. lymphocyte clones. Eur. J. Immunol, 13: 970 – 976, 1983.
- FLETCHER, R. H**; Fletcher, S. W. Wagner, E. H. Epidemiologia Clínica: Elementos Essenciais. (Clinical Epidemiology: The Essentials). Tradutores edição brasileira: Mari Inês Schimidt; Bruce B. Duncan, Michael Schmidt Ducan e Lisângela Preisser 3ª Ed. Porto Alegre Ed. Artes médicas, 1996.
- FLEZZANI, P.**, Croughwell, N.D.; McIntyre, R.W. Isoflurane decreases the cortisol response to cardiopulmonary bypass. Anesth. Analg. 65 : 1.117 – 1.122, 1986.
- FRANGEN, R.J.**; Avram, M.J. Nonopioid intra venous anesthetics In: Barrash, P.G.; Cullen, B.F., Stoeting, R.K. Clinical Anesthetic, Philadelphia: J.B. Lippincott Co., 1988, 227 – 53p.
- GALLEY, H. F.** Webster N R. The immunoinflammatory cascade. Br. J. Anesth, 77: 11 - 16, 1996.
- GALPIN, J.** Immunity and microbial disease, in Handbook of Immunology in Ageing, Kay M. M. B. and Makinodan, T. Eds. CRC Press, Boca Raton, 1981, 141p.
- GAO X – M.**, Rhodes J. An essencial role for constitutive Schiff. Base – forming ligands in antigens presentation to murine T cell clones. J. Immunol, 144: 2883 – 2890, 1990.

- GELLER, M.** & Coslovsky S. Imunologia de reprodução. An. Acad. Nac. Med. 54: (2), 72 - 73, 1994.
- GELLER, P.;** Geller, M. Citoquinas e imunoregulação. An Aca. Nac. Med., 157 (2): 97 - 102, 1997.
- GELFAND, E. W.;** Dosch, H. M.; Shore, A.; Linibatil, S.; Lee, J. W. Role of the thymus in human T cell differentiation. In: Biological basis of Immunodeficiency, Colited by E. W. Gelfond and H. M. Dosch, pp39. New York, Roven Press, 1980.
- GILLER S.;** Kozak R.; Durante, M. Immunological studies of aging: Decreased production of and response to T cell growth factor by lymphocytes from aged human. J. Clin. Invest., 67: 937, 1981.
- GILLILAND, E.H.;** Armstrong N.A; Carabine, and McMurray, T.J. The choice of anesthetic maintenance technique influences the antiinflammatory cytokine response to abdominal surgery. Anesth. Analg.; 85: 1394 – 1998, 1997.
- GILMAN S. C. ;** Rosemberg J. S.; Feldman J. D.: T cells of young and aged rats: Functional defects and role of Il-2. J. Immunol, 128: 644, 1982.
- GLANTZ, S.A.** (1981) Primer of Biostatistics. Mc Graw-Hill Book Company, pg. 284 – 304.
- GLEN, J. B.,** Animal studies of the anaesthetic activity of ICI 35.868. Br J Anaesth. 52:731-46; 1980.
- GO, A S.** Cardiac outcomes after regional or general anesthesia. Do we have the answer? Anesthesiology, 84: 1 - 2, 1996.
- GOLDSTEIN, A. L.** and Zatz, M. M. Thymosin and Aging, in Immunological Aspects of Aging. Seyre D. and Smith, L., Eds, Dikkes Publishing Co., New York, 371, 1981.
- GOOD, R. A.** and Gabrielson, A. B.; Eds. Thymus in Immunobiology, Holber-Harper, New York, 1964.
- GOODMAN, H. M.,** Basic Medical Endocrinology. New York, Raven Press, 1994.
- GOODWIN, J. S.;** Changes in lymphocyte sensitivity to protaglandin E, histamine, hydrocortisone, X inadiation with age. Studies in health elderly population Clin. Immunol Immunopathol, 25: 243 - 251, 1982.
- GORCZYNSKI, R. M.;** Kennedy, M. and Mac. Rae, S. Alteration in lymphocyte recognition repertoire during aging cell Immunol, 75, 226, 1983.

- GRAU, G.** Serum cytothine changes in systemic vasculitis. Immunology, 68: 196 – 198; 1989.
- GREEN, T. R.;** Bennett, S. R., Nelson V. M. Specificity and properties of propofol as an antioxidant free radical scavenger. Toxicology and appl. Pharmacol, 129: 163 – 169, 1994.
- GREINER, D. L.;** Goldsneider, L.; Borton, R. W. identification of thymocyte progenitors in haemopoietic tissues of the rat. – II. Enrichment of functional prothymocytes on the fluorescence – activated cell source. J. Exp. Med., 156: 1448, 1982.
- GROSS, P. A.** Beaugard et al. Surveillance for nosocomial infections: can the source of data be reduce? Inf. Control, n°. 1: 232 - 233, 1980.
- GUARDUCCI, A. M.;** Lager M.; Solca, M.; Raduzzani. Alterazione dei parametri dell immunitá umorale conseguenti ad. intervento chirurgico o trauma Min. Anestesiol, 47: 471 - 473, 1981.
- GUYTON, C. A.** and Hall J. E. Textbook of Medical Physiology - Philadelphia, W. B. Scuders Company, 9<sup>th</sup>, 957 - 970, 1996.
- HALLGREN, H. M.;** Jackola, D. R. and O'Leary J. J.: Unusual pattern of surface marker expression on peripheral lymphocytes from aged humam suggestive of population of less differentd cells. J. Immunol., 13: 191 - 194, 1983.
- HALLIWEIL B.;** Gutteridge J. M. C. eds: Free radical in biology and medicine, 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, 1990..
- HANSEN, T.G ;** Tonnesen, E ; Andersen, J.B.; Toft, P., Bendtzen, K. The peri-operative citokine response in infants and young children following major surgery. Eur. Journal Anaesthesiol. Jan; 15(1): 56-60; 1998.
- HARMAN D.** Aging: A Theory based on free radical and radiation chemistry. J. Gerontol, 11: 298 - 300, 1956.
- HARMAN, D.;**Heindrick, M. L. And. Eddy, D. E Free radical theoris of aging: effect of free radical reaction inibitors on the immune response. J. Am Geriatr Soc. 251: 400, 1977.
- HEMELRYCK, J. V.;** White P. F. No-opioid intra venous anesthesia in Barash P G. Clullen, B F Stoelting R C.Clinical Anesthesia, 3<sup>rd</sup> Ed. New York, Lippincott-Raven. 1997. 311 – 327p.
- HILL, G. E.;** Stanley, T. H.; Lunn J. K.; Wen – Shin, English, J. B. Neutrophil chemotaxes during halotane and halotane – N<sub>2</sub>O anesthesia in man. Anesth Analg., 56: 696 – 702, 1977.

- HIROKAWA, K.** Reversing and restoring immune functions. Mech. Ageing Dev., 93 (1-3): 119 – 24, 1997.
- HITT, B.A.** ; Mazze, R.I. ; Cousins, M.J.; Edmunds, H.M. Metabolism of isoflurane in Fisher 344 rats and man. Anesthesiology, 40: 62 – 67, 1974.
- HOBBS M. V.**; Ernst D. N, Torbett B E, et all: Cell poliferation and cytokine production by CD4 cells from old mice; J Cell Biochem; 46: 312, 1991.
- HOLE, A.** Per and Postopertive monocyte and erymphocyte Functions: Effects of imune from patients operated under general or epidural anaesthesia. Acta anaesthesiol Scand, 28: 287 – 291, 1984.
- HOLE, A**; Unsgaard G, Breivik H. Monocyte functions are depressed during and after surgery under general anaesthesia but not under epidural anaesthesia. Acta Anaesthesiol Scand, 26: 301 - 307, 1982.
- HOOVER, S. L.**; And Siegel, J. A. Internacional demographic trends and perspectives on ageing. J. Cross - Cult Gerontol; 1: 5 - 1986.
- HORTON, R.**; Nurses knowledge of infection control. Nurs Standard. V7: 25 - 29, 1993.
- HOWARD R. J.** Effects of burn injured, mechanical trauma and operation on immune defenses. Surg. Clin. North. Am, 54: 194 - 211, 1979.
- HOWARD, M.** ; Muchamuel, J.; Andrade A . Interleukin 10 protects brain from lethal endotoxemia. J.Exp.Med. 1993; 177: 125 a 1208.
- HUMPHREY, L. J.**; Wingard, D. W.; and Lang, R., Effect of halothane on spleen cells; in vitro studies on reversibility of immunosuppression, Surgery, 65: 939, 1969.
- HUNTER, J.M.**: New neuromuscular blocking drugs. N Engl. J. Med.; 332: 1691 – 1699, 1995.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**; Brasil em números: Rio de Janeiro, Vol. 2, 1993.
- JANEWAY, C. A. Jr.**; Carding, S.; Jones, B.; Murray, J.; Portoles, P.; Rasmussen, R.; Roto, J.; Saizawa, K. CD4+ T cells: specific and function. Imm. Ver., 101: 39, 1988.
- JENSEN, T. L.**; Hallgren, H. M.; Yasmineh, W. G. and O’Leary, J. J. Do immature T cells accumulate in advanced age? Mech. Ageing Dev. 33, 237, 1986.

- JUBERT, A. V., Lee E. T.** Heash, E. M., Mc. Bride C. M. Effects of surgery, anesthesia and intra operative blood loss on immunocompetence J. Surg. Res. 15: 399 – 412; 1973.
- KAHRAMAN, S.;** Kelenc K.; Dal O.; Erdem K. Propofol attenuate formation of lipid peroxides in tout niquet induced ischaemia – reperfusion injury. Br. J. Anaesth, 78: 279 – 281, 1997.
- KALACHE, A;** Perspectives: What are the implications of population ageing in the foreseeable. Future, in: Future Health of. Ageing Population, Geneva: Unit of Monitoring Evaluation and. Projection Methodology, O. M. S. 1993.
- KALACHE, A;** Veras, R. P. e Ramos L. R. O envelhecimento da população mundial; um desafio novo. Revista de Saúde Pública, 21: (3), 200 - 210, 1997.
- KAPLAN, D. R.;** Griffith, R.; Braciale, V.L.; Braciale, T. Influenza virus specific human cytotoxic T cell clones; heterogeneity in antigenic specificity and restriction by class II MHC products. Cell. Immunol., 88: 193, 1984.
- KAY M. M. B.** and Makinodan, T. Immunobiology of aging: evaluation of current status, Clin Immunol. Immunopathol, 6: 394, 1976.
- \_\_\_\_\_. Immunodeficiency in old age: In Chandra R. K. (ed.): Primary and Secondary Immunodeficiency Disorders. Edinburgh, Churchill Livingstone, 1983, p. 165.
- \_\_\_\_\_. Immune System: expression and regulation of cellular aging in thresholds in Aging. Bergener, M.; Ermine M.; and Stahelin, H. B. Eds. Academic Press, London, 1985, 59p.
- KEHLET I I.** The stress response to surgery: release mechanisms and the modifying effects of pain relief. Acta Chir Scand, 550 (suppl): 22, 1989.
- KIECOLT – GLASER J. K.;** Glaser R. Stress and Immune function in humans. In: Ader R.; Felten D. L.; Cohen N., Eds, Psyconeuroimmunology 2<sup>nd</sup> ed. San Diego California: Academic Press: 849 – 67, 1991.
- KINSELLA, K.** Ageing in the Third World in Future of Aging Population, Geneva: Unit of Monitoring Evaluation and Projection Methodology, OMS, 1993.
- KJEEDSEN, K. J.;**The influence of psychological factors on the immune system and immunological diseases. Inst. Revmat immunologi, 26: 116, 1996.
- KNUDSEN, F.;** Klausen N. O.; Ferguson A. H.; Pedersen J. O.: In vitro effect of etomidate and thiopental on granulocyte migration. Acta Anaesthesiol Scand, 31: 93 – 95, 1987.

- KOET, E. R.** and Sutanto, W.: Neurobiology of steroids. San Diego, C. A . Academic Press, 1994.
- KOKITA, N.;** Hara, Propofol Attenuates Hydrogen Peroxide – induced mechanical and metabolic serangements in the isolated rat heart. Anesthesiology; 84 : 117 – 27, 1996.
- LACERDA, R. A.** Joucinas V. M. G.; Egry, E. Y. A Face iatrogênica do hospital: as demandas para o controle das infecções hospitalares. São Paulo: Atheneu Editora, 1996.
- LAINER, L. L.** Correlation of cell surface antigen expression on human thymocytes by multi-color flow cytometric analysis: implications for differentiation. J. Immunol., 137:2501, 1986.
- LASLETT P.;** The History of Aging and the Aged. Ed. Cambridge Press, 1977.
- LAURO C.;** Grandi, R; Augeri, C. Modificazioni dello stato immunitario indotte dall'anestesia e dall'intervento chirurgico. Minerva Anestesiol; 60: 427 - 35, 1994.
- LEE, A. G.** Model for action of local anesthetics. Nature, 262: 545, 1976.
- LENY, J. H.;** Kelly A. B. Inflammation and cardiopulmonary by puss. Can J. Anaesth, 40: 1.009 - 1.015, 1993
- LEVINE, B.;** Kalman, J.; Mayer, L.; Fillit, H. M.; Packer, M. Elevated circulating levels of tumor necroses factor in severe chronic heart disease. N. Engl J. Med., 323: 236 - 241, 1990.
- LEVY S. M.** Herberman RB, Lee L. et al: Purposely low natural killer cell activity age and environmental stress as predictors of infections morbidity. Nat. Immun. Cell Growth; 10: 209, 1991.
- LIGHTHART, G. J.;** Corberand, J. X. Forunier, C.; Galanaud, P.; Humans, W.; Kennes, B.; Muller - Hernnelink, H. K. and Steinn-Ann, G. G. Admission criteria for immunogerontological studies in man: The Senieur Protocol Mechanisms of Aging and Development, 28: 47 - 55, 1984.
- LIGHTHART, G. J.;** Corberand, J. X. Henrica, G. M. Geetzen, A; Meinders, E.; Knook, D. L. and Hijmam, W.. Necessity of the assessment of health status in human immunogerontological studies. Evaluation of the Senieur Protocol. Mechanisms of Ageing and Developmnet, 55: 89 - 105, 1970
- LIPPMAN R. D.** Free radical - induced lipidperoxidation and ageing. In: Miguel J. Quintanillia A T, Weber H, eds. Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine, vol. 1 CRC Press, pp 187 - 197, 1980.

- LOURIA D. B.;** Purnender S.; Sherer C. et al. Infection in older patients: A systematic clinical approach, Geriatrics, 48: 28 - 34, 1993.
- LOYD, S.** et al. Free Radicals and Septic Shock in Primates: The Role of Tumor Necroses Factor – Free Rad. Biol. Med., 14: 233 – 42, 1993.
- LOWRY S. F.** Cytokine mediators of immunity and inflammation. Arch Surg., 27: 1.184 - 1.190, 1992.
- LUNEC J.** Free Radicals: their involvement is disease process. Ann clin Biochem, 27:173 - 182, 1990.
- MAC LENNAN, W. J.;** Watt, B. and Elder, A. T. Infections in Elderly Patients. 1<sup>a</sup> Ed. London, Edward Arnold, 1994.
- MAC DONALD, H. R.;** Budd, R. C.; Howe, R. C. A CD3- subset of CD4-/CD8+ thymocytes: a rapidly cycling Intermediate in the geration of CD4+/CD8+ Cells. Eur. J. Immunol., 18: 519, 1988.
- MAC PHEE, D.;** Pye, J.; Shortman, K. The differentiation of T lymphocytes – V. Evidence for Intrathymic death of most thymocytes. Thymus, 1: 151, 1979.
- MANRIQUE, E. I e Galvão, L. L.** Racionalização e Controle de Antimicrobianos. In: Rodrigues, E. A. C. Mendonça J. S. de; Amarante, J. M. B.; Alves Filho, M. B.; Grimbaum, R. S. ; e Richtimann, R - Infecções Hospitalares: Prevenção e Controle. Ed. Sarvier, São Paulo, 1996.
- MANSON-SMITH, A.;** The effects of age on the immune response to type III pneumococcal polysaccharide (SIII) and bacterial lipopolysaccharide (LPS) in BALB/C, SJL/J and C<sub>3</sub>H mice. J. Immunol., 116: 469, 1976.
- MARINO, M. C. A. e Santos, A. G. R.** Epidemiologia das Infecções no Idoso em Infectologia Geriátrica. Rocha, M. O . C.; Pedroso, São Paulo, BYK, 1997. 43 – 46p.
- MARKONIC, S. N.;** Knight, P. R.; Mucesko, D. M. Inibition of interferon stimulation of natural killer all activity in mice anesthetized with halothane or isoflurane. Anesthesiology; 78: 700 - 706, 1993.
- MATHER, L.E.** Clinical pharmacokinetic studies of fentanyl and its newer derivatives; Clinical Pharmacokinetics; 8 : 422 – 446; 1983.
- MATHIESON, B. J.;** Fowikes, B. J. Cell surface antigen expression on thymocytes: development and phenotypic differentiation of intrathymic subsets. Immunol. Rev., 82: 141, 1984.
- MATHRU, M.;** Dries, D.J; Barnes, L. Tourniquet – induced exanguination in patients requiring lower limb surgery. Anesthesiology, 84: 14 – 22. 1996.

- MC CORD, J.M.** Oxygen – derived free radicals in postischemic tissue injury – N. Engl. J. Med., 312:159 – 63, 1985.
- MC CORD, J.M.** Fridovich I. Superoxide dismutase – An enzymatic function for erythrocyt. J. Biol. Chem.; 244: 6049-6055; 1969.
- MC IRVINE A. J.;** Mannick: Lymphocyte function in the critically ill surgical patient. Surg. Clin. N. Am., 63: 245 – 61, 1983.
- MC PHEE, D.;** Pye, J.; Shortman, K. The differentiation of T lymphocytes – V. Evidence for intrathymic death of most thymocytes. Thymus, 1: 151, 1979.
- MEDICI, M.;** Damiane, C.; Consoli, P. Exposição crônica a anestésicos inalatórios e imunidade. Minerva. Anestesiol., 58: 1.279 – 84, 1992.
- MEHLHORN R J;** Cole G. The free radical theory of ageing: a critical review. Adv. Free Radic. Biol. Med., 1: 165 - 223, 1985.
- MERHY, E. E.;** São Paulo de 1920 a 1948. A Saúde pública como política. Os movimentos sanitários, os modelos tecno-assistenciais e a formação de políticas governamentais. Campinas, 1991; Tese (doutorado) Departamento de Medicina Preventiva da USP.
- MICHAEL, S. T.** Adaptation of brief stress. Yale Journal of Biology and Medicine, 1949.
- MILLER, J. F. A. P.** Immunological functions of the thymus. Lancet., 11: 748, 1961.
- MILLER, R. A.** Age associated decline in precursor frequency for different T-cell mediated reaction, with preservation of helper or cytotoxic effects per precursor cell, J. Immunol., 132: 63, 1984.
- MINGARI, M, C.:** Moretta, A.; Maggi, E.; Pantaleo, G.; Gerosa, F.; Remagnani, S.; Moretta, L. Frequent co-expression of cytolytic activity and lymphokine production among human T lymphocytes. Production of B cell growth factor and interleukin-2 by T8+ and T4+ cytolytic clones. Eur. J. Immunol., 14: 1066, 1984.
- MOLLER, G.** Antigenic requirements for activation of MHC restricted responses. Immunol. Rev., 98: 1, 1987.
- MOSIER, D. E.;** Mond, Y. T.; and Goldings, E. A. The ontogeny of thymic independent antibody responses in vitro in normal mice and mice with an x-linked B-cell defect. J. Immunol., 118, 1874, 1977.



- MOSMANN, T. R.;** Coffmann, R. L. Th1 and Th2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Ann. Ver. Immunol., 7: 145, 1989.
- MOUDGIL G. C.** Effect of premedicants, intravenous anesthetic agent and local anesthetics on phagocytosis in vitro. Can J. Anaesth, 28: 597 – 602, 1981.
- MOUDGIL, G. C.** Influence of halothane on mortality from murine hepatitis virus (M. HV<sub>3</sub>) Br J Anesth, 45: 123, 1973.
- MURIEL C.;** Garcia – Sanchez - A.; Zaballos - A. Changes in the immunologic status related to the duration of the anesthesia / surgery procedure. Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim., 43 (5): 160 – 3, 1996.
- \_\_\_\_\_. Garcia – Sanchez, A.; Sanchez – F; Zaballos, A.; Nicolas J. Impact of anesthetic technique (general versus intradural anesthesia) on immune status. Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim., 43 (6): 164 – 6, 1996.
- MURPHY. PG;** Bennett Jr., Myers D. S.; Davies M. J., Jones J. G. The Effect of Radical – induced in Rat Liver Microsomes. European Journal of Anesthesiology. 10:216-266; 1993.
- NAGEL, J. E.;** Chrest, F. J.; Pyle, R. S. et al. Monoclonal antibody analysis of T - lymphocyte subsets in young and age adults. Immunol. Commun., 12: 223 - 237, 1983.
- NICOL, T.;** Vernon - Roberts, B.; and Quantock, D. C.. The influence of various hormones on the reticuloendothelial system. Endocrine control of body defense. J. Endocrinol, 33: 365, 1965.
- NOGUCHI M.;** Yi H; Rosenblatt H. M - Interleukin - 2 receptor gamma chain mutations results in X-linked severe combined immunodeficiency in humans-cell. Immunol 73: 147 - 57, 1993.
- NOHL H.;** Hegner D. Do mitochondria produce oxygen radicals in vivo? Eur J. Biochem., 82: 563 - 567, 1978.
- NUNN, J. F.;** O'Morain, C. Nitrous Oxide decreases motility of human neutrophils in vitro. Anesthesiology, 56: 45 - 48, 1982.
- O'LEARY, J. J.;** Jackola, D. R.; Hallgren, H. M.; Abbasnezhad, M.; and Yasmineh, W. Evidence for a less differentiated subpopulation of lymphocytes in advanced age. Mech. Ageing Dev.; 21, 108, 1983.
- OLIVEIRA, A. C.** Albuquerque, C. P. e Rocha, L. C. M. Infecções Hospitalares. Rio de Janeiro, Medsi, 1998, 320 – 321p.

- OLSEWER, E.** Radicais Livres em Medicina. 2ª Ed. São Paulo, Editorial BYK, 1992. 141-155p.
- OMOGUI, S.** The Anesthesia Drugs Handbook, 2<sup>nd</sup> Ed. Los Angeles, Mosby. 1995. 296 – 299p.
- OPPENHEIM J. J.**; Kovacs R. J.; Matsushima, K.; Durum K. There is more than one interleukin 1. Imunol Today, 7: 45 - 56, 1986.
- OTTE, R. G.**; Wormsley, S. and Hollingsworth, J. W.: Cytofluorographic analysis of pokeweed mitogen - stimulated human peripheral blood cells in culture: Age - related characteristics. J. Am. Geriatri C. Soc., 31: 49 - 56, 1983.
- OWEN, J. J. T.**; Jenkinson, E. J. Early events in T lymphocyte genesis in the fetal thymus. Am. J. Anatomy, 170: 301, 1984.
- PACELLI F.**; Doglietto G. B. Alfieri S et al. Prognosis in intra-abdominal, infections. Multivariate analyses on 604 patients Arch Surg., 131: 641 - 5, 1996.
- PACHECO M.**, Nalda M. A., Vich J. M., Doria A, Garcia P. Influencia de la neuroleptoanalgesia tipo II sobre los linfocitos T y B. Rev. Esp. Anestesiol Reanim, 31: 225 - 228, 1984.
- PAOELA, B.**; Bachalet, M.; Elia, G.; Santoro, M.G. Stress proteins in inflammation. In: Ann N Y Acad Sci. 851:75-79; 1998.
- PARK, S. W.**; Brody J. C. Wallance, H. A. and Blackmore, W. S. Immunosuppressive effect of surgery. Lancet, 1: 53, 1971.
- PASSETO A**; Rigotte I; Girardi G; Gilli, E; Miglioranzi R; Bartolini A . Correlazione fra risposta endocrinometabolica e funzionalita fagocitaria dei leucociti polimorfonucleati (P M N) in soggetti sottoposti ad. intervento chirurgico en anestaesia volatile com alonginatti, Acta Anaesth Ital: 39 - 467, 1988.
- \_\_\_\_\_ ; Rigotti L; Bartoloni A; Antonello A; Gelli E.; Girardi G.; Funzionalista fagocitaria dei leucociti polimorfonucleati (P M N) in pazienti operati in anestesia locoregionale. Acta Anaesth Ital, 39: 145, 1988.
- PATERSON, D. J.**; Williams, A. F. An intermediate cell in thymocyte differentiation that express CD8 but not CD4 antigen. J.Exp. Med. 166: 1603, 1987.
- PAUL, N. L.**; Ruddle, N. H. Lymphotoxin Ann. Ver. Immunol., 6: 407, 1988.
- PAVELA, B.**; Bacheet, M.; Elia G.; Santoro, MG. Stress Proteins in Inflammation. In: An NY Acad Sci., v. 851: 75 - 79, 1998.

- PAWELEC, G.;** Adibzadeh, M.; Pohla, H. and Schaudt, K. Immunosenescence: ageing of the immune system Immunology Today, 16 (9): 420 - 422, 1995..
- PERLMUTTER, D. H.;** Dinarello C. A .; Punsal P. I.; Cohen H. R. Cachectin / tumour necrosis factor regulated hepatic acute phase gene expression. J. Clin. Investigation, 78: 1.349 - 1.354, 1986.
- PÉNIT, C.;** Vasseur, f. Sequential events in thymocyte differentiation and thymus regeneration revealed by a combination of bromodeoxyuridine DNA labelling and antimetabolic drug treatment. J. Immunol., 140: 3315, 1988.
- PHD** Farmácia de Manipulação Dept. Científico. Geriatrics (1 ed.), Mendes C. & Luizzi J. M., 1994.
- PHILOSOPHE, B.** Miller R. A: T Lymphocyte heterogeneity in old and young mice: functional defects in T cells selected for poor calcium signal generation. Eur J. Immunol, 19: 695, 1989.
- PIETSCH, J.B.,** Meakins, J.L. Predicción infecciones en pacientes quirúrgicos. Clin Quir, 2: 185-198; 1979.
- PIRTTIKANGAS, C. O,** Salo, M., Mansikka, M. The influence of anaesthetic technique upon the immune response to hysterectomy: a comparison of propofol infusion and isoflurane. Anaesthesia. ; 50: 1056 – 1061; 1995.
- PONKA, J. L.;** Brush B. E. Experiences with the repair of groin hernia in 200 patients aged 70 or older. J. Am. Ger. Soc., 22: 18 - 24, 1974.
- PÓVOA, H. F.,** Radicais livres em patologia humana. Med. Prat. 2,(3):- 72-78, 1988.
- \_\_\_\_\_. Vitaminas e medicina ortomolecular. Rev. Bras. de Angio. e Cir. Vasc., 17: 169 – 176, 1997.
- \_\_\_\_\_. Radicais Livres em Patologia Humana. Ed. Imago Rio de Janeiro, 1995.
- \_\_\_\_\_, et al. New method for determination of free radical in blood. Free Rad. Biol., med. 9, Suppl. 1, 146, 1990.
- PRADE, S. S.** Estudo brasileiro de magnitude das infecções hospitalares em hospitais terciários. Rev. Cont. Inf. Hosp. Brasília, V<sub>2</sub>: 11 - 25, 1995.
- PRASAD, K.;** Kabra, J.; Bharadway, B.; Chaudhardy, A . K. Increased oxygen free radical activity in patients on cardio pulmonary bypass undergoing aorto coronary bypass. Surgery A Heart J, 123 (1): 37 - 45, 1992.

- PUTSH J. B.**, Meakins, J. L. Predicción de infecciones en pacientes quirúrgicos. Clin. Quir North Am, 2: 185 - 198, 1979.
- RAMOS, L. R.** Growing old in São Paulo, Brasil: assessment of health status and social support of elderly people from different socio-economic strata living in the community. Tese for PHD London School of Hygiene and Tropical Medicine (LSHTN) Londres, 1986.
- REICH, D.L.** (1997) Minimizing cardiac risk in non-cardiac surgery. (summary) 51 st. Postgraduate Assembly in Anesthesiology, 1997, A69 – A 70.
- REITER R. J.**; Carneiro, R. C. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanism. Horm. Metab. Res. 29 (8): 363 – 72, 1997.
- REM J.**; Nielsen O. S.; Brandt M. R.; Kehlet, H. Release mechanisms of postoperative changes in various acute phase proteins and immunoglobulins. Acta Anaesth. Scand., 502: 51 – 56, 1980.
- RHODES J.** Erythrocyte rosettes provide an analogue for Schiff. Base formation in specific T cell activation. J. Immunol, 145: 463 – 469, 1990.
- RICHMOND, C. W.** and Zutz H. B - cell and immunoglobulin immunodeficiency in the elderly in Immunology and Allergy Clinics of North America, vol 13, nº 3: 514 - 520, 1993.
- RINK, L.**; Seyfarth – M. Characteristic of immunologic test values in the elderly. Gerontol – Geriatr., 30 (3): 220 – 5, 1997.
- ROBB, R.J.** Interleukin – 2 : The molecule and its function. Immunology Today; 5 : 203, 1984.
- ROBERTSON M**, Caligivri M, Manley T et al: Human natural killer cell adhesion molecules: differential expression after activation and participation in cytotoxicity. J. Immunol, 145: 3.194, 1990.
- ROCHA, M.O. C.**; Pedroso, E.R.P.; Santos, A. G. R. Infectologia Geriátrica. São Paulo; BYK Editorial. 1997, P. 432.
- ROCKLIN R. E.**, Inmunidad Celular. En: Stein J. H. editor. Medicina Interna Barcelona: Salvat Editores, 1203; 1983.
- ROEBOTHAN, B. V.**; Chandra, R. K. Relationship between nutritional status and immune function of elderly people. Age and Aging, 22: 49 - 53, 1994.
- ROITT, I. M.**; Brostoff, J.; Male, D. K. Immunology in Gower Medical Publishing. (ed). 3.1-3.2, 3.3-3.4 (1989).

- RONZONI, G.;** Carli, F. Hormonal and Metabolic Response to Trauma: pathophysiology and Therapeutic Management. Minerva Anesthesiol, 56 (6): 323 - 346, 1992.
- ROSENKOLTTER, M.;** Antel, J. P. and Oger, J. J. F. Modulation of T. lymphocyte differentiation antigens: Influence of ageing cell, Immunol, 77: 395 - 401, 1983.
- ROSENOW, G.** Hirnstammnarkose, hyper thermie un experimentelle, leukocytosen. Klinische Wochenschrift, 9: 1.588, 1930.
- ROSSANO, F.,** Tufano, R., Cipolano - de L., Ergo G. Anesthetic agents induce human mononuclear leukocytes to release cytokines Immunopharmacol Immunotoxicol, 14: 439 - 450; 1992.
- RYHANEN, P.** Effects of anesthesia and operative surgery on the immune response of patients of different ages. Ann Clin. Res, 9 (Suppl 19), 1977.
- SAGAI, M.,** Ichinose T. Age - related changes in lipidperoxidation as measured by ethane, ethylene butane and pentane in respired gases of rats. Life Sci, 7: 731 - 738, 1980.
- SALINAS, J. C.,** Navarro M; Revilla J. M.; Ramiro M. P.; Lozano, R. Relaciones entre el sistema inmunológico humoral y la función plaquetaria en el postoperatorio inmediato. Cir Esp., 36:121 - 126,1982.
- SALO, M,** Pirttikangas C.O , Puekki K. Effects of propofol emulsion and thiopentone on T helper cell type1 / type 2 balance in vitro. Anaesthesia; 52 :341 - 344; 1997.
- \_\_\_\_\_. Effects of anesthesia and surgery on the immune response. Acta Anesthesiol Scand, 36: 201 - 220, 1992.
- SANDUSKY, W. R.** Tratamento profilático dos pacientes cirúrgicos. Clin. Cir. Am. North, 60: 83 - 92, 1980.
- SANTANA, E;** Aliaga L.; Villar Landeira, J. M. Anesthetic considerations in patients with human immunodeficiency virus infections. Rev. Esp. Anesthesiol Reanim, 40 (3): 137 - 145, 1993.
- SANTOS, N. Q.** Infecção Hospitalar. Uma reflexão histórico crítica. Florianópolis: UFSC, 1997. 28 p.
- SATOH. K.** Serum Lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. Clin. Chin. Acta, 90: 37 - 48, 1978.
- SATZMAN, R.;** Peterson, P. K. Immunodeficiency of the elderly. Rev. Infect. Dis, 9 (6) : 1.127 - 1.131, 1987.

- SARAVIS, N.** Resposta Imunoinflamatória à circulação extracorpórea: Estado atual. Rev. Bras. Anesthesiol, 48: 126-136; 1998.
- SAWADA, M,** Sester, U. And Carlson, J. C. Superoxide radical formation and associated biochemical alterations in the plasma membrane of brain, heart and liver during the lifetime of rat. J. Cell Biochem, 48: 296, 1992.
- SAWAIES, N.** Resposta Imunoinflamatória à circulação extracorpórea: Estado atual. Rev. Bras. Anesthesiol, 48: 2: 126 - 136, 1998.
- SAYEG, M.A.** O ensino da geriatria e da gerontologia nos cursos da área de saúde: In: seminários "A Educação, a prevenção e a gerontologia", 1994 / Palácio da Cultura, Rio de Janeiro.
- SBGG-RJ,** Caminhos do Envelhecer, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1994.
- SCHWAB, R,** Hausman, P. B, Rinnooy - Kan, and Weksler, M. E. Immunological studies of ageing. Impaired T-lymphocytes and normal monocyte response from elderly humans to the mitogenic antibodies OK T<sub>3</sub> and Leu<sub>4</sub>. Immunology, 55: 677, 1985.
- SCOLLAY, R.;** Bartiett, P.; Shortman, K. T. cell development in the adult murine thymus: Changes in the expression of the surface antigens Ly2, L3T4 and B2A2 during development from early precursor cells to emigrantes. Immunol. Rev., 82: 79, 1984.
- SEAGARD, J.L. ;** Elegbe, E.O , Hopp, F.A , Bosnjak, Z.U., Von Colditz. Effects of isoflurane on the baroreceptor reflex. Anesthesiology 59: 511 – 520, 1983.
- SEEMAN P.** The membrane expansion theory of anesthesia. In Fink B. R., ed: Molecular Mechanisms of Anesthesia, vol. 1, New York, Raven Press; 1975, pg 171.
- SEGAL A. W.** Variations on the theme of chronic granulomatous disease. Lancet: 1.378 – 1.383, 1985.
- SEITZ, W.** Stress and endocrine system. A contribution to value of endocrine parameters in anesthesia and surgery. Anesthesiol-Reanin, 16: (3) 147 - 158, 1991.
- SHAPIRO, H. M.;** Grant, J.; Weiger, M. B. Aids and the central nervous system Anesthesiology, 80: (1) 187 - 200, 1994.
- SHORTMAN, K;** Wilson, A.; Egerton M.; Pearse, N; Scollay R. Immature CD4-/CD8+ murine thymocytes. Cell Immunol. 113: 462, 1988.

- SIES H.** Oxidative stress: introductory remarks In: Sies H. ed. Oxidative stress. London Academic Press, 1985, 18p.
- SIGNORINI, J. L & Signorini S. L.** Atividade Física e Radicais Livres Ed. USP Atheneu 1ª Edição, São Paulo, 1993.
- SIMON, E. J.** Inhibition of bacterial growth by drugs of the morphine series. Science, N. Y., 144: 543, 1964.
- SIMS, J. E.;** Gayle, M. A.; Slack, J. L. Interleukin - 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor. Proc. Natl Acad Sci, USA, 90: 6.155 - 9, 1993.
- SINGH, M., G. P.;** Losowsky, M. S.: Why are Alzheimer patients thin? Age Aging, 17: 21 - 28, 1998.
- SLADE, M. S.;** Simmons R. L.; Yunis E, Greenberg L. J. Immunodepression after major surgery in normal patients. Surgery, 78: 363 – 372, 1975.
- SOHAL, R.S.** and Allen, R. G. Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging: a unifying hypothesis. Exp. Gerontol, 25: 499, 1990.
- STEVENSON, G. W.,** Hall S. C.; Rudnick S; Selen F. L.; Stevenson H. C. The effect of anesthesia agents on the human immune response. Anesthesiology, 72: 542 - 552, 1990.
- STOCKLEY, R. A.;** Hill S. R.; Burnett D. Proteinases in chronic lung infection. Ann NY Acad Sci, 624: 257 - 66, 1991.
- STRATFORD, N.;** Murphy, P. Antioxidant activity of propofol in blood from anaesthetized patients. European J. Anaesthesiol, 15: 158 – 160, 1998.
- STUTMAN O.** Post-thymic T Cell development Immunol 91: 159, 1986.
- SUTHANTIRAN, M.** and May, M. Glutathione regulates activation dependent DNA synthesis in highly purified normal T lymphocytes stimulation via CD2 and CD3 antigens. Proc. Natl. Acad Sci, USA, 87: 3343 - 3347, 1990.
- SY, M. S.;** Benacerraf, B. Suppressor T cells, Immunoglobulin and Igh restriction. Immunol. Rev., 101: 133, 1988.
- TAIT, A. R.;** Davidson, B. A.; Johnson K. Y.; Remick, D.: Knight P. R: Halothane alters the virus specific immune response to influenza in mice (abs). Anesthesiology, 73: A 340, 1990.

- TAKENAKA, I.;** Ogata, M.; Koga, K.; Matsumoto. Ketamine supress endotoxin - Induced tumor necrosis factor alpha production in mice. Anesthesiology, 80: (2) 402 - 408, 1994.
- TAN, S.;** Yokoyama, Y.; Dickens, E.; Cash, T.G.; Freeman, B.A.A , Xanthine oxidase activity in the circulation of rats following hemorrhagic shock. Free Radic. Bios. Med. 15 : 407 – 14; 1993.
- TERRADA, L.S;** Rubistein, J.D; Lesnefsky, E.J. Existence and participation of xanthine oxidase in reperfusion injury of ischemic rabbit myocardium. Am. J. Physiol. 260: H805-10; 1991.
- THAYER, C.B.** Lowe, S. and Rubright, W.C. Clinical evaluation of a combination of droperidol and fentanil® as an anasthetic for the rat and hamster. J. Am. Vet. Med. Assoc. 161, 665-668; 1972.
- THOMAN, M. L.** Ansd Weigle, W. O. Cell mediated immunity in aged mice an underlying lesion in Il - 2 synthesis. J. Immunol, 128: 2.358, 1982.
- THOMSON, I. C. R.;** Whitlinghan S.; Aging immune response and mortality. Lancet, 17: 368 - 370, 1974.
- THORMAN, M. L.** and Weigle, W. D. cell mediated immunity in aged mice: an underlying lesion in Il<sub>2</sub> - synthesis. J. Immunol, 128: 2.358, 1982.
- TIMIRAS, P. S.** Physiological basis of geriatrics Boca Raton, C R C Press 1994.
- TONNESEN E.** and Wahlgreen C. Influence of extradural and general anaesthesia on natural killer cell activity and lymphocyte sub populations in patients undergoing hysterectomy. Br..J. Anaesth., 60: 500 - 507, 1988.
- TOUT. K.** Aging in developing countries Oxford. University Press, 1989.
- TYAN, M. L.** Marrow stem cells during development na aging in Handbook of Immunology in Aging, Kay, B and Makinodan, T. Eds, C R C Press, Boca Raton, FL, 87, 1981
- VALIM, M. C. S.;** Gomes L. C. P.; Fortes, E. F. Propofol em Eletroconvulsoterapia. Rev. Bras. Anestesiol., 48: 3: 214 – 220, 1998.
- VARAGNOLI, B. M.** Anesthesiologic experience with propofol in tumor pathology. Rev. Eur. Sci-Med Farmacol, 14 (2): 143 - 145, 1992.
- VAZ, J.L.M.;** Vaz, M.S.C. Uso do atracurium em Anestesia Geral. Relato de 38 casos. Revista Médica e Cirúrgica; 1: 9 a 19, 1991.



- \_\_\_\_\_ ; Vaz, M.S.C e Póvoa, H.F. Propofol e associação Propofol/Fentanil. Avaliação dos radicais livres por gênero e peso em ratos Wistar idosos (sumário) 45º Congresso Brasileiro de Anestesiologia; 1998. 141p.
- VAZ, M. S. C.** Anestesia para Cirurgia de Feocromocitoma. São Paulo: Cristália, 1997. 55p.
- VELASCO E**; Thuler, L. C. S; Dias, L. M. C; Gonçalves V M. S C. Risk factors for infections complications after abdominal surgery for malignant disease. A. M. J. Infect Control, 24: 1 - 6, 1996.
- VENJATRAMAN, J. T.**; Fernandes, G. Exercise immunity and aging. Aging – Milano, 9 (1-2): 42 – 56, 1997.
- VENTAKESEN P**, Gladman J, Mac Farlane J T, Barer D, Berman P. Kinnear W, Finch R H. A hospital study of community acquired pneumonia in the elderly. Thorax, 45: 254-58, 1990.
- VERAS R. P.** A survey of the health of elderly people in Rio de Janeiro, PHD London, 1992 (Thesis – Doutorate) Division of Psychiatry United Medical and Dental, Guy's Hospital, University of London.
- \_\_\_\_\_. País Jovem com Cabelos Brancos. A Saúde do Idoso no Brasil; Rio de Janeiro: Relume - Dumará, 1994.
- VERHOEF J.** Transient immunodepression. J. Antimicrob Chemother, 265 C: 23-9, 1990.
- VETVICKA, V.**; Teaskolova - Hongenova, H.. Impaired antigen presenting functions of macrophages from aged mice, Immunol, 118, 846, 1977.
- WALFORD, R. L.** The Immunological theory of ageing. Munksgaard, Copenhagen, 1969.
- WALTON B.** Anaesthesia, surgery and immunology. Anaesthesia, 33: 322 - 348, 1978.
- \_\_\_\_\_. Effects of anaesthesia and surgery in immune status. Br. J. Anaesth, 51: 351,1979.
- WEGNER C. D.**; Gundel R. J.; Reilly P.; Hayner, N.; Letts L. G.; Rotheleen, R. Intracellular adhesion molecule - 1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. Science, 247: 456 - 9, 1990.
- WEIGLE, W. D.** The effect of aging on cytokine release and associated immunologic functions. Immunology and Allergy Clinic of North America. Vol. 13: nº 3, August 1993.

- WESKLER, M. E.** The Senescence of the immune system. Hosp. Pract., 16: 51 - 64, 1981.
- WHELAN P,** Morris P. J. Immunological responsiveness after transurethral resection of the prostate. General versus spinal anaesthetic Clin Exp. Immunol, 48: 641 - 618, 1982.
- WHISTLER, R. L.** and Newhouse, Y. G. Immunosenescence of the human B-cell system: impaired activation proliferation in response to autologous monocytes pulsed with staph. Protein A and the effects of interleukins 1 and 2 compared to interferon, Lymphokine. Res., 4: 331, 1985.
- WYLLIE, A. H.** Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis associated with endogenous endonuclease activation. Nature, 284:555, 1980.
- XU – Y. X.;** Ayala – A; Chandry I. H. Prolonged immunodepression after trauma and hemorrhagic shock. J. Trauma, 44 (2): 335 – 41, 1998.
- YAMAGUCHI, S.;** Ogata, H.; Hamguchi, S.; Kitajima T. Superoxide radical generation and histopathological changes in hippocampal CA1 after ischaemia reperfusion in gerbils. Can. J. Anaesth, 45: 3, 226 - 32, 1998.
- YASUKAWA, M.;** Zarling, J. M. Human cytotoxic T cell clones directed against herpes simplex virus infected cell I. lysis restricted by HLA class. II MB and RD antigens. J. Immunol. 133: 422, 1984.
- YEARK, M. P.;** Glass D. O.; Neff, R. K.; Johsen, T. D. Epidural analgesia in high risk surgical patients. Anesthesiology, 66: 724 - 723, 1987.
- YOUNG D. V.** Comparison of local, spinal and general anesthesia for inguinal herniorrhaphy. Am. J. Surg., 153: 560 - 563, 1987.
- YOUNG, D. A.** Glucocorticoid action on rat thymus cells. Journal of Biological Chemistry, 244: 2.210, 1969.
- ZANON, U.** Vigilância epidemiológica das infecções hospitalares, 1978. Tese de Doutorado UFMG, Belo Horizonte.
- ZATZ, M. M.** And Goldstein, A. L. Thymosins lymphokines and the immunology of aging. Gerontology, 31: 263, 1985.
- ZENILMAN M. E.** and Roslyn J. J. Clínicas Cirúrgicas da América do Norte - Cirurgia no Paciente Idoso. Rio de Janeiro: Interlivros, 1994.
- ZHARHARY, D.** and Klinman, N. R.; B. cell repertoire diversity to PR8 influenza virus does not decrease with age J. Immunol, 133: 2.285, 1984.

Morbidade Hospitalar do SUS -  
 CID-9  
 Internações por Micro/Munic Int. e  
 Faixa Etária  
 Capítulo CID: IX. Doenças do  
 aparelho digestivo  
 Lista Básica CID: Doenças de  
 outras partes do aparelho digestivo  
 Lista Estend CID: Hérnia da  
 cavidade abdominal  
 Faixa Etária: 60 a 69 anos, 70 a 79  
 anos, 80 anos e mais, Idade  
 ignorada  
 Período:1995-1997

ANEXO 1

	60 a 69 anos	70 a 79 anos	80 anos e mais	Idade ignorada	Total
Micro/Munic Int.					
33001 Itaperuna	228	116	26	0	370
..... Bom Jesus do Itabapoana	31	17	2	0	50
..... Italva	16	9	1	0	26
..... Itaperuna	129	69	18	0	216
..... Laje do Muriaé	5	1	3	0	9
..... Natividade	30	16	0	0	46
..... Porciúncula	12	1	1	0	14
..... Varre-Sai	5	3	1	0	9
33002 S.Antônio Pádua	80	47	13	0	140
..... Cambuci	21	9	3	0	33
..... Itaocara	33	12	5	0	50
..... Miracema	11	9	4	0	24
..... Santo Antônio de Pádua	15	17	1	0	33
33003 Campos Goytac.	257	121	43	0	421
..... Campos dos Goytacazes	234	110	41	0	385
..... São Fidélis	23	10	2	0	35
..... São João da Barra	0	1	0	0	1
33004 Macaé	62	39	11	0	112
..... Conceição de Macabu	21	10	2	0	33
..... Macaé	40	29	9	0	78
..... Quissamã	1	0	0	0	1
33005 Três Rios	45	20	4	0	69
..... Areal	1	2	0	0	3
..... Paraíba do Sul	23	6	1	0	30
..... Três Rios	21	12	3	0	36
33006 Cantag/Cordeiro	25	9	4	0	38
..... Cantagalo	9	5	2	0	16
..... Carmo	6	0	0	0	6
..... Cordeiro	10	4	2	0	16
33007 Nova Friburgo	80	49	13	0	142
..... Bom Jardim	9	0	0	0	9
..... Duas Barras	2	0	0	0	2
..... Nova Friburgo	65	48	13	0	126
..... Sumidouro	4	1	0	0	5
33008 S.M.Madalena	12	8	2	0	22
..... Santa Maria Madalena	6	6	2	0	14
..... Trajano de Moraes	6	2	0	0	8
33009 Bacia de S.João	14	11	2	0	27
..... Casimiro de Abreu	14	11	2	0	27
33010 Lagos	101	47	16	0	164
..... Araruama	24	13	1	0	38
..... Arraial do Cabo	10	2	0	0	12
..... Cabo Frio	32	15	8	0	55
..... São Pedro da Aldeia	21	9	7	0	37
..... Saquarema	14	8	0	0	22

33011 Vale Paraíba RJ	241	149	28	0	418
..... Barra Mansa	53	31	6	0	90
..... Itatiaia	3	1	0	0	4
..... Pirai	33	19	5	0	57
..... Resende	43	32	7	0	82
..... Rio Claro	23	9	1	0	33
..... Volta Redonda	86	57	9	0	152
33012 Barra do Pirai	86	54	16	0	156
..... Barra do Pirai	36	22	8	0	66
..... Rio das Flores	5	2	1	0	8
..... Valença	45	30	7	0	82
33013 Baía I.Grande	43	26	6	0	75
..... Angra dos Reis	33	19	6	0	58
..... Parati	10	7	0	0	17
33014 Vassouras	145	61	10	0	216
..... Engenheiro Paulo de Frontin	14	3	1	0	18
..... Mendes	10	4	1	0	15
..... Miguel Pereira	38	22	3	0	63
..... Paracambi	28	8	1	0	37
..... Vassouras	55	24	4	0	83
33015 Serrana	225	133	24	1	383
..... Petrópolis	165	100	21	1	287
..... São José do Vale do Rio Preto	2	0	0	0	2
..... Teresópolis	58	33	3	0	94
33016 Macacu-Caceribu	75	41	12	0	128
..... Cachoeiras de Macacu	16	6	3	0	25
..... Rio Bonito	59	35	9	0	103
33017 Itaguaí	96	39	5	0	140
..... Itaguaí	75	29	5	0	109
..... Mangaratiba	21	10	0	0	31
33018 Rio de Janeiro	4359	2129	486	3	6977
..... Duque de Caxias	57	30	3	0	90
..... Itaboraí	31	16	3	0	50
..... Japeri	22	9	0	0	31
..... Magé	72	26	4	0	102
..... Maricá	29	15	2	0	46
..... Nilópolis	48	11	4	0	63
..... Niterói	371	182	44	0	597
..... Nova Iguaçu	297	111	18	1	427
..... Queimados	21	3	8	0	32
..... Rio de Janeiro	3168	1638	376	2	5184
..... São Gonçalo	195	75	23	0	293
..... São João de Meriti	48	13	1	0	62
Total	6174	3099	721	4	9998

## ANEXO 2

**FUNDAÇÃO SEVERINO SOMBRA**  
FACULDADE DE MEDICINA DE VASSOURAS RJ

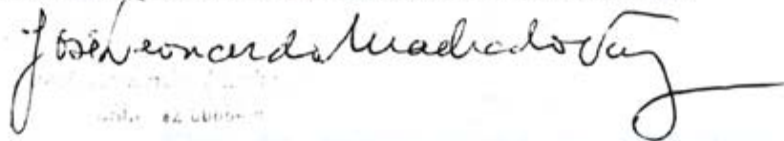
### DECLARAÇÃO

Declaro que foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa desta Instituição de ensino , o projeto da PROFESSORA MARCIA DA SILVEIRA CHARNECA VAZ , CRM 5235851.2, que visa :

“Mensurar os Radicais Livres em Ratos Wistar com o Uso de Propofol e Propofol Fentanil “.

Vassouras, 4 de janeiro de 1995

PROFESSOR JOSÉ LEONARDO MACHADO VAZ  
COMISSÃO DE ÉTICA E PESQUISA DA FACULDADE DE MEDICINA



ANEXO 3

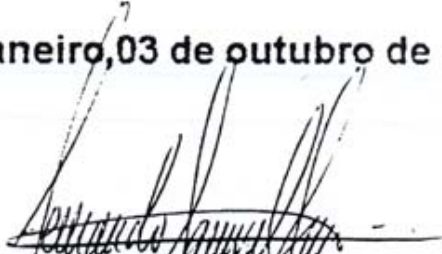


Universidade do Rio de Janeiro (UNI-RIO)  
Hospital Universitário Gaffrée e Guinle

## DECLARAÇÃO

Declaro para fins de comprovação junto a Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ, que o Projeto intitulado A INFLUÊNCIA DE TRÊS TÉCNICAS ANESTÉSICAS NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA DO IDOSO da Prof<sup>a</sup> Márcia da Silveira Charneca Vaz, foi aprovado em primeira instância pela Comissão do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle da Universidade do Rio de Janeiro - UNI-RIO, no dia 22 de setembro de 1997.

Rio de Janeiro, 03 de outubro de 1997



Prof. Fernando S. Slon  
PRESIDENTE CCEP





**Universidade do Rio de Janeiro ANEXO 5**  
**Hospital Universitário Graffée e Guinle**

Pesquisa: Influência de Três Técnicas Anestésicas na Resposta Imunológica do Idoso.

Pesquisadora Responsável: Marcia da Silveira Charneca Vaz.  
Médica CRM: 5235851-5

**ANTES DA INTERVENÇÃO**

**- Identificação:**

Dia \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Nome: ..... sexo M  F

Idade: ..... Peso ..... Cor ..... Nacionalidade .....

Estado Civil: ..... Escolaridade: .....

End. Atual: ..... Bairro .....

A quanto tempo reside neste local ? .....

End. Anterior: ..... Bairro .....

**- História Clínica:**

Tem alguma doença crônica? Sim  Não

Faz tratamento médico ? Sim  Não

Quais medicamentos usa continuamente ou eventualmente? .....

Fez nos últimos cinco anos algum tratamento para câncer Sim  Não

Caso sim. Qual e local ( hospital ) .....

Está fazendo dieta alimentar .....

Nos últimos 6 meses tem tido resfriados, gripes, herpes com freqüência? .....

Tem tido necessidade de tomar medicamentos para controlar infecções? ( Ex. pneumonia, infecção dentária, outros ) .....

**- Hábitos e dependências**

Fuma  Sim  Não

Caso Sim; Quantos ao dia ? ..... cigarros / dia

Usa algum tipo de drogas ?

cocaína  crack  maconha

outros  .....



Bebe bebida alcoólicas

Sim  Não

Caso Sim. Qual ? .....

Freqüência ? .....

**- Exames:**

Dia da coleta .....

Leucócitos Totais ..... Leucócitos  $\tau$  ..... Leucócitos  $B$  .....

CD<sub>4</sub> ..... CD<sub>8</sub> ..... Interleucina<sub>1</sub> ..... Interleucina<sub>2</sub> .....

Explosão respiratória .....

Radicais Livres .....

Lipoperóxidos nas hemácias .....

## PÓS - INTERVENÇÃO

**- Anestesia:**

Dia \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Tipo de anestesia ..... duração do ato anestésico .....

Cirurgia ..... duração do ato cirúrgico .....

**- Exames :**

Dia \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Leucócitos Totais ..... Leucócitos  $\tau$  ..... Leucócitos  $B$  .....

CD<sub>4</sub> ..... CD<sub>8</sub> ..... Interleucina<sub>1</sub> ..... Interleucina<sub>2</sub> .....

Explosão respiratória .....

Radicais Livres .....

Lipoperóxidos nas hemácias .....

**- Questionário:**

Questionário aplicado quando da retirada dos pontos da pele Dia \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Depois da anestesia até hoje, apresentou alguma das doenças:

Resfriado  Gripe  Herpes simples  Pneumonia

Infecção de pele  Infecção no local operatório  outros  .....

Houve ou ainda há necessidade de uso de antibiótico para tratar à infecção ?

Sim  Não

Qual ? .....

**TRABALHO DE PESQUISA**

ANEXO 6

**Responsável:** Dra. Marcia da Silveira Charneca Vaz CRM:5235851-5 / CIC:725599427-04  
**Endereço:** Rua Nº 34, casa Nº 135 - Maravista - Itaipu-Niterói / RJ. Fax / Tel.:(021) 609-8202  
**E.MAIL:** marciava@ensp.com.br

---

Nº : \_\_\_\_\_

CÓDIGO : \_\_\_\_\_

**EXAMES :**leucócitos totais \_\_\_\_\_ interleucina<sub>2</sub> \_\_\_\_\_CD<sub>4</sub> \_\_\_\_\_ cortisol plasmático: \_\_\_\_\_CD<sub>8</sub> \_\_\_\_\_ explosão respiratória \_\_\_\_\_

linfócito T \_\_\_\_\_ quimioluminescência \_\_\_\_\_

linfócito B \_\_\_\_\_ lipoperóxido nas hemácias \_\_\_\_\_

interleucina<sub>1</sub> \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura e Carimbo**TRABALHO DE PESQUISA**

**Responsável:** Dra. Marcia da Silveira Charneca Vaz CRM:5235851-5 / CIC:725599427-04  
**Endereço:** Rua Nº 34, casa Nº 135 - Maravista - Itaipu-Niterói / RJ. Fax / Tel.:(021) 609-8202  
**E.MAIL:** marciava@enspfocruz.br

---

Nº : \_\_\_\_\_

CÓDIGO : \_\_\_\_\_

**EXAMES :**leucócitos totais \_\_\_\_\_ interleucina<sub>2</sub> \_\_\_\_\_CD<sub>4</sub> \_\_\_\_\_ cortisol plasmático: \_\_\_\_\_CD<sub>8</sub> \_\_\_\_\_ explosão respiratória \_\_\_\_\_

linfócito T \_\_\_\_\_ quimioluminescência \_\_\_\_\_

linfócito B \_\_\_\_\_ lipoperóxido nas hemácias \_\_\_\_\_

interleucina<sub>1</sub> \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura e Carimbo

Universidade do Rio de Janeiro  
Escola de Medicina e Cirurgia  
Hospital Universitário Gaffrée e Guinle.

ANEXO 7

Título: A influência de três técnicas anestésicas na resposta imunológica do idoso.

Investigador: Marcia da Silveira Chameca Vaz

## Termo de consentimento

Nome do Voluntário:

Como voluntário, o ( a ) Sr. ( a ) está sendo solicitado ( a ) a participar de uma investigação científica, patrocinada por \_\_\_\_\_  
( Nome da Instituição )

Com o Objetivo de \_\_\_\_\_  
( objetivo principal )

sob a Coordenação do ( s ) Dr. ( s ) \_\_\_\_\_

Este documento procura fornecer ao ( a ) Sr. ( a ) informações sobre o problema de saúde em estudo e a experiência que será realizada, detalhando os procedimentos e exames, benefícios, inconvenientes e riscos potenciais. O ( A ) Sr. ( Sra. ) poderá recusar-se a participar da pesquisa ou, mesmo, dela se afastar em qualquer tempo, sem que este fato lhe venha a causar qualquer constrangimento ou penalidade por parte da instituição, a qual manterá o acompanhamento e tratamento que lhe está sendo prestado para atender o problema de saúde objeto da investigação. O investigador se obriga a não revelar sua identidade em qualquer publicação resultante deste estudo, assim como poderão interromper a participação do Sr. ( a ), qualquer tempo, por razões técnico/médicas quando, então, lhe serão fornecidos aconselhamento e orientação. Os exames e procedimentos aplicados lhe serão gratuitos. O Sr. ( a ) receberá todos os cuidados médicos adequados para o controle de efeitos adversos que possam ocorrer, em consequência de sua participação nesta pesquisa.

Antes de assinar este **Termo**, o Sr. ( a ) deve informar-se plenamente sobre o mesmo, não hesitando em formular perguntas sobre qualquer aspecto que julgar conveniente esclarecer. É importante estar ciente das seguintes informações:



1 - O problema de saúde objeto da investigação:

esta sendo desenvolvido neste hospital um estudo sobre possíveis mudanças na resposta imunológica do idoso após anestesia. Uma vez que a população idosa aumentou no Brasil e não dispomos de informações se a anestesia alteraria o estado imunológico desta faixa etária.

É importante que sua leitura seja cuidadosa a este documento e não deixe de fazer quaisquer perguntas relativas à sua participação na pesquisa.

2 - Objetivos ( s ) da investigação:

detectar os níveis de radicais livres e alterações imunológicas antes e após o ato anestésico.

3 - Exames, procedimentos e agentes terapêuticos que serão utilizados:

exames: CD<sub>3</sub> ; CD<sub>4</sub> ; linfócito T e B; cortisol; explosão respiratória; Radicais Livres; lipoperóxido hemácia; leucometria e interleucina <sub>1 e 2</sub> . Procedimentos: anestesia geral, peridural e técnica combinada. Agentes terapêuticos: bupivacaína; fentanil; tracrium e propofol.

4 - Benefícios:

avaliação imunológica e do estresse oxidativo.

5 - Inconvenientes:

os inerentes das próprias técnicas empregadas com explicação sobre os mesmos e orientação médica.

6 - Riscos potenciais conhecidos até os dias atuais:

- anestesia peridural : aracnoídite adesiva;

- anestesia geral: hipotensão arterial, depressão respiratória e vômitos.

Declaro estar ciente do inteiro teor deste **Termo de Consentimento**, decidindo-me a participar da investigação proposta, depois de ter formulado perguntas e de ter recebido respostas satisfatórias a todas elas, e ciente de que poderei voltar a fazê-las a qualquer tempo. Declaro, pois, dar meu consentimento para participar desta investigação recebendo uma cópia do **Termo**, estando ciente, ainda, de que uma outra cópia permanecerá registrada nos arquivos de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
( Nome da Instituição )

Local e data: \_\_\_\_\_

Nome do Voluntário: \_\_\_\_\_

Endereço do Voluntário: \_\_\_\_\_

Assinatura do Voluntário: \_\_\_\_\_

Local e data: \_\_\_\_\_

Assinatura do Investigador: \_\_\_\_\_

Local e data: \_\_\_\_\_

Nome da Testemunha: \_\_\_\_\_

Assinatura da Testemunha: \_\_\_\_\_

Local e data: \_\_\_\_\_

ANEXO 8

**Universidade do Rio de Janeiro - UNI - RIO**

**HOSPITAL UNIVERSITÁRIO GAFFRÉE E GUINLE**

**RIO DE JANEIRO**



Carta com Resultados de Exames Laboratoriais

Universidade do Rio de Janeiro

Escola de Medicina e Cirurgia

Hospital Universitário Gaffrée e Guinle

Memo.002/98 - fisiologia

CCIH/HUGG

02/07/98

A: Prof. Marcia da Silveira Charneca Vaz

Endereço (a), Senhor(a)

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer por sua participação em nosso trabalho sobre a influência de Três Técnicas Anestésicas na Resposta Imunológica do corpo.

Em resposta a sua solicitação, informamos que não dispomos das taxas de infecção hospitalar no período de agosto de 1995 a julho de 1996.

Atividade de ensino, de 7 às 15 horas, na sala de Disciplina de Anestesiologia, no 1º andar do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, sítio da Maré - Barros, 775 - Tijuca.

Atenciosamente.

UNI-RIO  
Dra. MARIA INÉS KLÖH  
COREN-RJ 23436  
Enfermeira CCIH  
HUGG  
Charneca Vaz

? / Comissão de Controle de Infecção Hospitalar

ANEXO 9

Carta com Resultados de Exames Laboratoriais

**Universidade do Rio de Janeiro**  
**Escola de Medicina e Cirurgia**  
**Hospital Universitário Gaffrée e Guinle**  
**Disciplina de Anestesiologia**

Dia, / / 98

Prezado (a) Senhor(a):

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer por sua participação em nosso estudo sobre a Influência de Três Técnicas Anestésicas na Resposta Imunológica do Idoso.

Estou enviando os resultados de seus exames pré e pós-anestésicos, colocando-me à sua disposição para esclarecer possíveis dúvidas, às terças-feiras e quartas-feiras, de 7 as 15 horas, na sala da Disciplina de Anestesiologia, no 1º andar do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, sito à rua Mariz e Barros, 775 - Tijuca.

Atenciosamente,

Dra. Marcia da Silveira Charneca Vaz