



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Publicação Oficial da Sociedade Brasileira de Anestesiologia
www.sba.com.br



ARTIGO CIENTÍFICO

Artroplastia total do joelho induz apoptose em linfócitos de sangue periférico e não é evitada por anestesia regional – estudo randomizado



Juliusz Kosel^{a,*}, Małgorzata Rusak^b, Łukasz Gołembiewski^a,
Milena Dąbrowska^b e Andrzej Siemiątkowski^a

^a Departamento de Anestesiologia e Terapia Intensiva, Universidade Médica de Białystok, Białystok, Voivodia, Polônia

^b Departamento de Testes Hematológicos, Universidade Médica de Białystok, Białystok, Voivodia, Polônia

Recebido em 1 de abril de 2014; aceito em 16 de julho de 2014

Disponível na Internet em 6 de março de 2015

PALAVRAS-CHAVE

Artroplastia total do joelho;
Anestesia regional;
Anestesia geral;
Linfócitos;
Apoptose

Resumo

Justificativa e objetivo: Dentre as muitas alterações causadas por uma ferida cirúrgica, uma das menos estudadas é a imunossupressão pós-operatória. Esse fenômeno é uma causa importante das complicações infecciosas relacionadas à cirurgia, como infecção do sítio cirúrgico ou pneumonia nosocomial. Um dos mecanismos que levam à imunossupressão pós-operatória é a apoptose de células imunológicas. Durante a cirurgia, a anestesia se destina a minimizar as alterações prejudiciais e manter a homeostase perioperatória. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da técnica anestésica usada para artroplastia total de joelho sobre a apoptose em linfócitos de sangue periférico no pós-operatório.

Métodos: Trinta e quatro pacientes submetidos à artroplastia total primária de joelho foram randomicamente designados para dois protocolos de anestesia regional: raqui-anestesia e bloqueio combinado raqui-peridural. Onze pacientes submetidos à artroplastia total do joelho sob anestesia geral formaram o grupo controle. Antes da cirurgia, logo após a cirurgia, durante o primeiro dia de pós-operatório e sete dias após a cirurgia, amostras de sangue venoso foram colhidas e o estado imunológico do paciente foi avaliado com o uso de *flow cysts* 87 m, juntamente com apoptose de linfócitos com o uso de microscopia de fluorescência.

Resultados: Apoptose em linfócitos de sangue periférico foi observada imediatamente no pós-operatório e acompanhada por uma redução do número de células T e B. Não houve diferença significativa no número de linfócitos apoptóticos de acordo com o protocolo anestésico. Alterações no número de células T CD3/8 e no número de linfócitos apoptóticos foram observadas no sétimo dia após a cirurgia.

* Autor para correspondência.

E-mail: jkosel@umb.edu.pl (J. Kosel).

KEYWORDS

Total knee replacement;
Regional anesthesia;
General anesthesia;
Lymphocytes;
Apoptosis

Conclusão: Apoptose em linfócitos de sangue periférico é um evento precoce no período pós-operatório que dura até sete dias e não é afetado pela escolha da técnica anestésica.

© 2014 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Total knee replacement induces peripheral blood lymphocytes apoptosis and it is not prevented by regional anesthesia – a randomized study

Abstract

Background: Among the many changes caused by a surgical insult one of the least studied is postoperative immunosuppression. This phenomenon is an important cause of infectious complications of surgery such as surgical site infection or hospital acquired pneumonia. One of the mechanisms leading to postoperative immunosuppression is the apoptosis of immunological cells. Anesthesia during surgery is intended to minimize harmful changes and maintain perioperative homeostasis. The aim of the study was evaluation the effect of the anesthetic technique used for total knee replacement on postoperative peripheral blood lymphocyte apoptosis.

Methods: 34 patients undergoing primary total knee replacement were randomly assigned to two regional anesthetic protocols: spinal anesthesia and combined spinal-epidural anesthesia. 11 patients undergoing total knee replacement under general anesthesia served as control group. Before surgery, immediately after surgery, during first postoperative day and seven days after the surgery venous blood samples were taken and the immunological status of the patient was assessed with the use of flow cysts 87 m, along with lymphocyte apoptosis using fluorescent microscopy.

Results: Peripheral blood lymphocyte apoptosis was seen immediately in the postoperative period and was accompanied by a decrease of the number of T cells and B cells. There were no significant differences in the number of apoptotic lymphocytes according to the anesthetic protocol. Changes in the number of T CD3/8 cells and the number of apoptotic lymphocytes were seen on the seventh day after surgery.

Conclusion: Peripheral blood lymphocyte apoptosis is an early event in the postoperative period lasts up to seven days and is not affected by the choice of the anesthetic technique.

© 2014 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

O trauma cirúrgico leva a uma resposta sistêmica complexa que inclui a ativação do sistema nervoso simpático, resposta endócrina e distúrbios inflamatórios e imunológicos. Junto com a ativação da resposta inflamatória, o que diminui a área de dano causado pelo estresse cirúrgico e facilita o processo de recuperação, o comprometimento do sistema imunológico ocorre. Esse mecanismo parece ter uma função de defesa – o organismo se defende da resposta autoimune diante do excesso de seus próprios antígenos e da estimulação dos processos de seu reconhecimento. Infelizmente, esse processo também leva a consequências adversas: o dano direto das barreiras defensivas naturais, como a pele e as mucosas, em associação com a insuficiência de mecanismos de defesa que aumenta a possibilidade de infecções. Em cirurgia oncológica, isso também significa progressão metastática e aceleração da neoplasia.

A linfopenia no pós-operatório é um fenômeno conhecido há muito tempo e aplica-se a todas as populações de linfócitos e a sua intensificação é diretamente proporcional à extensão da lesão.¹ É causada por uma série de eventos perioperatórios e um deles foi intensamente examinado

nos últimos anos. A apoptose é o processo de morte celular programada, um termo que foi proposto por Kerr et al., em 1972, para descrever morfológicamente diferentes tipos de morte celular.² A pesquisa intensa que prosseguiu nos anos seguintes permitiu a especificação dos mecanismos que levam à morte celular programada e do controle preciso da contagem de células. Isso é especialmente importante em relação ao sistema imunológico, pois a deficiência celular envolve o crescimento descontrolado de células tumorais e aumenta o risco de infecção, enquanto o excesso de células imunológicas pode levar à resposta autoimune. As principais vias da apoptose são: extrínseca, associada em particular ao “ligante morte” (FasL, CD195), e intrínseca, ou mitocondrial, que depende de fatores físicos e químicos, como hipóxia ou toxinas, que levam a alterações da estrutura mitocondrial. A terceira via descrita em relação aos linfócitos T citotóxicos é a apoptose mediada por perforina/granzima.³

O trauma cirúrgico inclui os danos teciduais diretos, bem como outros fatores como os anestésicos administrados, a perda sanguínea seguida por transfusões de sangue, hipotermia, imobilidade e, em alguns procedimentos, a isquemia geral ou local e também lesão de reperfusão. Todos os fatores acima podem induzir apoptose em células imunes.

Uma pesquisa clínica relatou a influência de procedimentos cirúrgicos sobre a apoptose em linfócitos circulantes.⁴ Esse fato levanta a questão sobre a técnica anestésica ideal e os anestésicos usados. Pesquisas que investigaram a influência dos anestésicos sobre a apoptose em linfócitos em condições *in vitro* relatam o efeito pró-apoptótico de quase todos os anestésicos locais, inalatórios e intravenosos.^{5,6} Infelizmente, os dados coletados de pesquisas clínicas são ambíguos. Um estudo comparativo de 2009 não relatou superioridade da anestesia regional sobre a anestesia geral (AG).⁷

Nos últimos anos, vários estudos retrospectivos interessantes que avaliaram os efeitos em longo prazo da anestesia regional foram feitos. Eles provaram que a recorrência de câncer e metástase é menos frequente entre os pacientes que foram submetidos a procedimento de prostatectomia radical com anestesia peridural em comparação com o mesmo procedimento com AG.⁸ Dois anos mais tarde, outro estudo confirmou parcialmente as observações anteriores e relatou superioridade da anestesia peridural em pacientes submetidos à prostatectomia.⁹ Infelizmente, os pesquisadores canadenses não confirmaram esses resultados e o período de sua pesquisa retrospectiva foi mais curto – três anos.¹⁰ Efeitos similares em longo prazo foram observados em pacientes com câncer de mama submetidas à mastectomia. Uma recorrência mais rara de câncer e metástase foi observada em pacientes que receberam a combinação de anestesia geral e paravertebral.¹¹ Esses achados, apesar do curto período de observação e dos resultados ambíguos, sugerem a necessidade de uma intensa pesquisa sobre a influência da anestesia nos mecanismos de defesa sistêmicos.

Objetivo do estudo

Avaliar o efeito da técnica anestésica sobre a contagem de linfócitos no sangue periférico durante o período perioperatório de pacientes submetidos à artroplastia total do joelho (ATJ) primária e a influência da apoptose em linfócitos sobre essas alterações. O estudo foi feito durante 18 meses, entre agosto de 2009 e abril de 2011, no Departamento de Cirurgia Ortopédica do Hospital Universitário em Białystok. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Bioética da Faculdade de Medicina da Universidade de Białystok, nº R-i-002/268/2009. Todos os pacientes receberam informações sobre o protocolo do estudo e assinaram o termo de consentimento informado.

Pacientes e métodos

Quarenta e cinco pacientes consecutivos, programados para ATJ primária, foram recrutados para o estudo. O critério

de inclusão foi osteoartrose. Os critérios de exclusão foram doenças como artrite reumatoide (AR), lúpus eritematoso sistêmico (LES), *diabetes mellitus* e tratamento com glicocorticosteroides, metotrexato e outros medicamentos imunossupressores e citostáticos nos 24 meses anteriores à cirurgia. A **tabela 1** apresenta as características demográficas dos pacientes. As amostras de sangue foram colhidas em quatro momentos: antes da cirurgia (T1), imediatamente após o fechamento da ferida cirúrgica (T2), 24 horas após a cirurgia (T3) e no sétimo dia após a cirurgia (T4). O estado imunológico e o estudo microscópico de linfócitos apoptóticos foram avaliados para todas as amostras de sangue.

Todos os pacientes qualificados para anestesia regional foram randomicamente alocados em dois grupos de protocolo anestésico: raquianestesia (RA) e combinação de raqui-peridural (CRP). Onze pacientes submetidos à cirurgia sob AG formaram o grupo de controle.

Para a indução da AG foram usados fentanil (Fentanyl WZF, Polfa Warszawa, Polônia) a uma dose de 1 µg.kg⁻¹, propofol (1% Propofol-Lipuro, B. Braun, Alemanha) a uma dose de 2 mg.kg⁻¹ e cloreto de suxametônio (Chlorsuccillin, Jelfa, Jelenia Gora, Polônia) a uma dose de 1 mg.kg⁻¹. Após a intubação orotraqueal, a anestesia foi conduzida com infusão contínua de propofol, remifentanil (Ultiva, GlaxoSmithKline, RU) e cisatracúrio (Nimbex, GlaxoSmithKline, RU). Ventilação artificial foi fornecida com uma mistura de ar e oxigênio e FiO₂ de 0,4. Dez minutos antes do fim da cirurgia, a infusão de remifentanil foi interrompida e morfina intravenosa (Morphini sulfas WZF, Polfa Warszawa, Polônia) foi administrada a uma dose de 0.1 mg.kg⁻¹ e 1 g de paracetamol (Perfalgan, Bristol-Myers Squibb Pharmaceuticals, EUA). O controle da dor no pós-operatório foi feito com morfina por via subcutânea, quando solicitado, e paracetamol (1 g a cada seis horas).

A RA foi fornecida com bupivacaína a 0,5% (Marcaina Spinal Heavy®, Astra Zeneca Pharmaceuticals, RU) a uma dose de 2,8-3,4 mL, de acordo com a altura do paciente. O controle da dor no pós-operatório foi o mesmo usado no grupo AG.

A CRP foi administrada com a técnica "espaço único-agulha dupla". Em decúbito lateral, no lado a ser operado, uma agulha de calibre 27G e formato ponta de lápis (Balton, Polônia) foi introduzida no nível de L3-L4. Após uma dose de 2,8-3,4 mL de bupivacaína hiperbárica (Marcaina Spinal Heavy®, Astra Zeneca Pharmaceuticals, RU), um cateter peridural (Perifix®, B. Braun, Alemanha) foi inserido. O espaço peridural foi identificado com a técnica da perda de resistência com uma seringa de baixa resistência cheia com solução salina. O teste de aspiração negativa foi a confirmação da posição correta do cateter. Após a recuperação motora e

Tabela 1 Características demográficas dos pacientes submetidos à ATJ em relação ao protocolo de anestesia

	Tipo de anestesia			Total
	Geral	Raqui	CRP	
Nº de pacientes	11	17	17	45
Mediana de idade (min-max)	69 (59-84)	72 (59-78)	72 (59-77)	72 (59-84)
Sexo (M:F)	2:9	2:13	3:16	7:38
Tempo cirúrgico em minutos	95	100	100	105
Mediana (min-max)	(6-160)	(70-120)	(70-120)	(60-160)

antes dos primeiros sintomas de dor, um *bolus* de 8-12 mL de ropivacaína a 0,5% (Naropin®, Astra-Zeneca Pharmaceuticals, RU) foi administrado. Subsequentemente, uma infusão contínua de ropivacaína a 0,2% com fentanil ($4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) a uma dose de 6-10 mL.h⁻¹ foi iniciada. A infusão foi interrompida após 48 horas e o cateter peridural foi removido.

Cirurgia

Artroplastia total do joelho (ATJ) foi feita com o uso do implante Triathlon® (Stryker Co., EUA) ou Vanguard® (Biomet Inc., EUA). Ambos os sistemas exigem um componente de fixação tibial e femoral com cimento ósseo e em ambos um componente plástico é inserido entre os dois componentes de metal para proporcionar a redução da distância e do atrito. Todas as cirurgias foram com o uso de um torniquete pneumático no nível femoral após exsanguinação da extremidade com faixa elástica. O torniquete foi insuflado à pressão de 150 mmHg acima da pressão arterial sistólica e desinsuflado após o endurecimento do cimento ósseo. Depois de obter a hemóstase cirúrgica, o dreno foi deixado em autotransfusão. Após o fechamento da ferida estratificada, o sistema de coleta de sangue autólogo para autotransfusão (ATS) HandyVac™ ATS (Unomedical, A/S, Dinamarca) foi iniciado. A ferida operatória foi coberta com uma compressa esterilizada. O tempo de cirurgia foi avaliado como desde o momento de exsanguinação da perna até o fechamento da pele.

Tratamento no pós-operatório

A transfusão de sangue autólogo foi fornecida de acordo com o volume de sangue coletado, mas não excedeu seis horas após o início do sistema ATS. A drenagem da ferida cirúrgica foi feita até o segundo dia de pós-operatório. Caso necessário, o concentrado de hemácias pobre em leucócitos era administrado, mas em nenhum caso isso ocorreu no dia da cirurgia. Todos os pacientes receberam tromboprofilaxia com heparina de baixo peso molecular (HBPM), de acordo com as Diretrizes da Sociedade de Ortopedia Polonesa.¹² Todos os pacientes também receberam profilaxia antibiótica com 1 g de cefazolina (Biofazolin®, Polpharma, Polônia) e 0,5 g de amicacina (Biodacyna®, Polpharma, Polônia) 30 minutos antes do início da cirurgia. A reabilitação no pós-operatório foi iniciada com o dispositivo de movimento passivo contínuo 24 horas após a cirurgia. A reabilitação ativa foi iniciada no terceiro dia de pós-operatório.

Preparação das amostras de sangue

As amostras de sangue para os testes laboratoriais foram coletadas em tubos de ensaio de 2 mL com EDTA em quatro momentos: antes da cirurgia (T1), imediatamente após o fechamento da ferida cirúrgica (T2), 24 horas após a cirurgia (T3) e sete dias após a cirurgia (T4).

O estado imunológico dos linfócitos do sangue periférico foi avaliado por citometria de fluxo com o uso do Simultest™ IMK-Lymphocyte Kit (BD Biosciences, San Jose, CA, EUA) e de um citômetro FASC Calibur BD. O *kit* permite a avaliação quantitativa da contagem de linfócitos de acordo com os seguintes antígenos de superfície: células

T (CD3) com subpopulações CD3/4 (T auxiliares), células T CD3/8 (T supressoras), células B (CD19) e células NK (CD16/56). A avaliação das células apoptóticas foi feita após o isolamento dos linfócitos com Histopaque-1077 e Histopaque-1119 (Sigma-Aldrich Co., EUA), centrifugação das amostras de sangue periférico a 3000.min⁻¹ e coloração com brometo de etídio ($10 \mu\text{M}$) e acridina laranja ($10 \mu\text{M}$). Acridina laranja se liga ao DNA e colore a sua estrutura de verde. Também se liga ao RNA citoplasmático e o colore de vermelho-alaranjado. O brometo de etídio não atravessa a membrana citoplasmática. Logo, ele colore de laranja apenas as células necróticas. A estrutura dos linfócitos foi avaliada por microscopia de fluorescência em ampliação de 1000×. Cem células consecutivas foram avaliadas como vivas, apoptóticas ou necróticas.¹³

Análise estatística

Foi feita com o programa Statistica 10.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os dados foram expressos em mediana e percentil 25 e 75, com valores mínimos e máximos. O teste de Shapiro-Wilk foi usado para avaliar a normalidade. Como os dados não seguiram uma distribuição normal, um teste não paramétrico foi usado para a análise. Os dados foram comparados em momentos consecutivos do estudo com o teste de Wilcoxon e os grupos de pacientes em momentos isolados com o teste de Kruskal-Wallis. Um valor *p* inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Estado imunológico

Imediatamente após a cirurgia, o número de linfócitos em circulação diminuiu. A contagem de células mais baixa foi observada na população de células T. Em T1, o número de células T foi reduzido para 55% dos valores basais ($p < 0,01$). Um pequeno aumento das células T foi observado 24 horas após a cirurgia (até 58% dos valores no pré-operatório). Sete dias após a cirurgia (T4), o número de células T circulantes ainda era 14% menor do que no pré-operatório (fig. 1). O padrão das alterações de subtipos específicos de células T foi diferente. A maior redução do número de células T CD3/4 circulantes foi observada imediatamente após a cirurgia e era de 45% dos valores no pré-operatório. Vinte e quatro horas após a cirurgia, um aumento do número de células T CD3/4 circulantes para 56% dos valores no pré-operatório foi observado. No sétimo dia do estudo, o número de células T CD3/4 circulantes atingiu 90% dos valores no pré-operatório (fig. 2). Um padrão diferente de alteração foi observado nas células T CD3/8. A maior redução de células T CD3/8 circulantes foi observada 24 horas após a cirurgia e diminuiu para 55% dos valores no pré-operatório. O número de células CD3/8 no sétimo dia foi o mesmo de antes da cirurgia (fig. 3).

Imediatamente após a cirurgia, o número de células B circulantes (CD19) foi significativamente menor do que antes da cirurgia. Vinte e quatro horas após a cirurgia, um aumento no número de células CD19 circulantes foi observado e no sétimo dia após a cirurgia o número de células B foi maior do

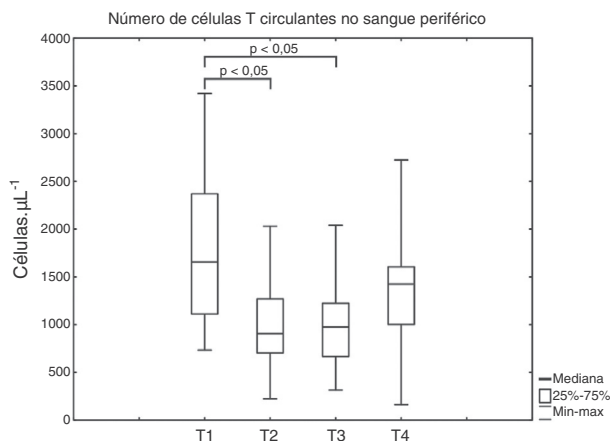


Figura 1 Número de células T circulantes (CD3) antes da cirurgia (T1), imediatamente após (T2), 24 horas após (T3) e sete dias após (T4). O diagrama de caixas (*box plot*) mostra os valores mínimos e máximos, os percentis 25 e 75 e as medianas (barras horizontais).

que antes da cirurgia, embora a diferença não tenha atingido significância estatística (fig. 4).

As menores diferenças foram observadas no número de células NK (CD16/56) circulantes. Não atingiram o nível de significância estatística durante o tempo do estudo (fig. 5). As alterações do estado imunológico foram avaliadas nos três grupos de pacientes de acordo com o protocolo anestésico, mas não observamos diferenças em nenhum dos momentos avaliados.

Apoptose em linfócitos do sangue periférico

Em todos os momentos, o número de linfócitos circulantes foi avaliado para sinais macroscópicos de apoptose por meio de microscopia fluoroscópica. Antes da cirurgia, o número de linfócitos apoptóticos variou de 0 a 8%. Um aumento estatisticamente significativo do número de linfócitos apoptóticos

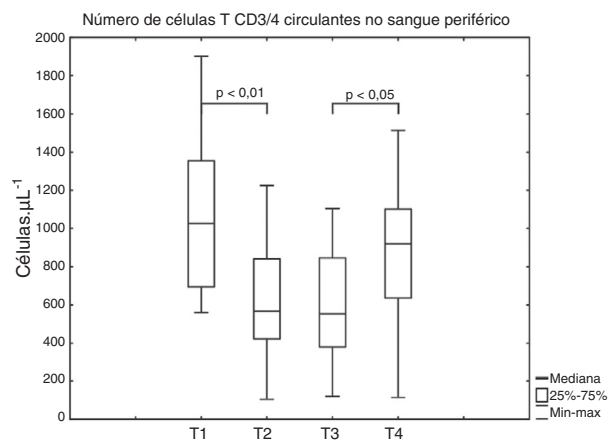


Figura 2 Número de células Th circulantes (CD3/4) antes da cirurgia (T1), imediatamente após (T2), 24 horas após (T3) e sete dias após (T4). O diagrama de caixas mostra os valores mínimos e máximos, os percentis 25 e 75 e as medianas (barras horizontais).

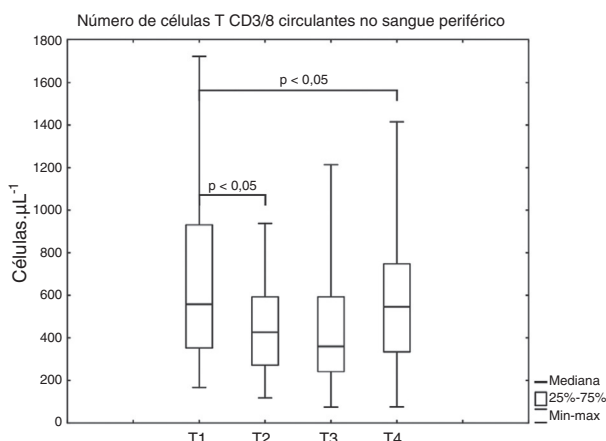


Figura 3 Número de células Ts circulantes (CD3/8) (supressoras) antes da cirurgia (T1), imediatamente após (T2), 24 horas após (T3) e sete dias após (T4). O diagrama de caixas mostra os valores mínimos e máximos, os percentis 25 e 75 e as medianas (barras horizontais).

foi observado imediatamente após a cirurgia. A diferença entre o número de linfócitos apoptóticos antes da cirurgia e após 24 horas não atingiu significância estatística, mas no sétimo dia do estudo o número foi mais elevado do que antes da cirurgia. Depois de comparar esses dados para os determinados protocolos anestésicos, diferença estatisticamente significativa não foi observada entre os grupos (fig. 6).

Discussão

Linfopenia no pós-operatório é um fenômeno bem estabelecido e descrito com precisão.¹⁴ Afeta todas as populações de linfócitos: células T citotóxicas e T auxiliares, células B e células NK e sua extensão depende da magnitude do trauma cirúrgico. Em nosso estudo, uma redução significativa do número de células T CD3/4 e T CD3/8 circulantes foi observada muito cedo, imediatamente após o fim da

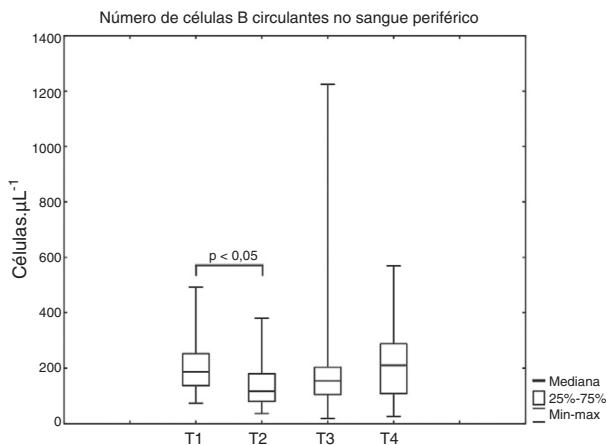


Figura 4 Número de células B circulantes (CD19) antes da cirurgia (T1), imediatamente após (T2), 24 horas após (T3) e sete dias após (T4). O diagrama de caixas mostra os valores mínimos e máximos, os percentis 25 e 75 e as medianas (barras horizontais).

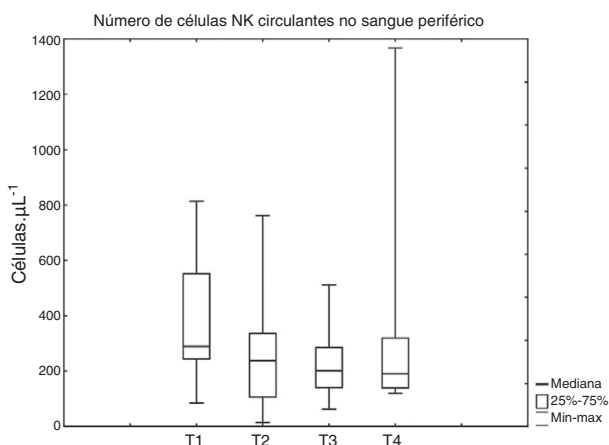


Figura 5 Número de células NK circulantes (CD16/56) antes da cirurgia (T1), imediatamente após (T2), 24 horas após (T3) e sete dias após (T4). O diagrama de caixas mostra os valores mínimos e máximos, os percentis 25 e 75.

cirurgia. Resultados semelhantes foram observados em estudos anteriores referentes a pacientes no pós-operatório e pós-traumáticos.^{15,16} A redução do número de células T circulantes foi observada 24 horas após a cirurgia, mas o número de células Th (CD3/4) (*helper* – auxiliares) aumentou 24 horas após a cirurgia e alcançou valores semelhantes aos observados no pré-operatório. O número de células T CD3/8 citotóxicas foi significativamente menor do que antes da cirurgia e uma diferença estatisticamente significativa foi observada até o sétimo dia após a cirurgia. Em contraste, o número de células B (CD19) circulantes apenas imediatamente após a cirurgia foi significativamente menor do que antes da cirurgia. Vinte e quatro horas após a cirurgia, um aumento do número de células B circulantes foi observado e sete dias após a cirurgia o número de células foi maior do que antes da cirurgia, embora a diferença não tenha atingido o nível de significância estatística. A causa de um padrão de

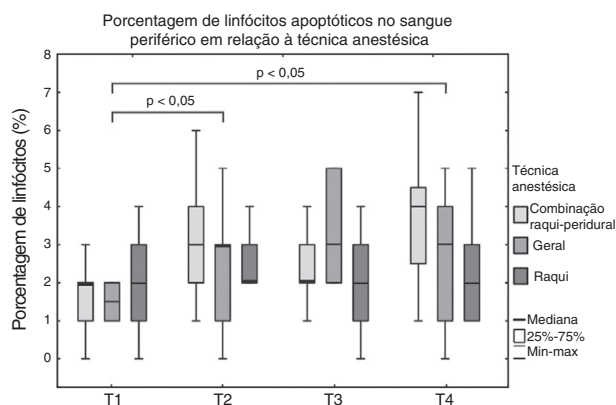


Figura 6 Número de linfócitos de sangue periférico apoptóticos em relação ao protocolo anestésico (grupo CRP, grupo AG, grupo raqui) antes da cirurgia (T1), imediatamente após (T2), 24 horas após (T3) e sete dias após (T4). O diagrama de caixas mostra os valores mínimos e máximos, os percentis 25 e 75 e as medianas (barras horizontais). Houve diferença estatisticamente significativa entre determinados tempos, mas não entre os grupos.

alteração tão diferente pode ser explicada pela presença de substâncias estranhas como os implantes de articulações ou cimento ósseo.¹⁷

Não foi observada diferença no número de células NK circulantes. O número de células NK circulantes não diferiu durante todo o período observacional do estudo. Nossos resultados diferem daqueles de estudos anteriores, nos quais uma redução significativa do número de células NK circulantes foi observada.^{18,19} A explicação para essa diferença pode ser a diferença na população de pacientes. Em nosso estudo, os pacientes em geral não tinham neoplasias, enquanto nos estudos citados acima os pacientes eram oncológicos. O número e a função das células NK é de interesse particular para os médicos porque essas células formam a primeira linha de defesa contra as células neoplásicas. A possibilidade de influência da técnica anestésica – geral *versus* regional – sobre o número e a função das células NK foi estudada em metanálise por Conrick-Martin e colaboradores.²⁰ Os resultados desse estudo não confirmam a superioridade das técnicas regionais sobre a AG, mas podem ser uma contribuição importante para estudos adicionais. A leve influência da anestesia e da cirurgia no número de células NK circulantes observada em nosso estudo pode ser explicada pela exclusão do estudo de pacientes com doença neoplásica e em uso de agentes imunossupressores.

A apoptose em linfócitos em resposta ao trauma cirúrgico é uma ocorrência bem confirmada em cenários *in vitro* e *in vivo*.^{4,21} Essa pode ser uma das causas de linfopenia pós-traumática e pós-operatória. Essa é a razão pela qual o efeito da técnica anestésica sobre os linfócitos de sangue periférico pode ser clinicamente importante. A escolha de um procedimento anestésico e de agente ideais poderia minimizar o efeito imunossupressor do insulto cirúrgico. Podemos apontar fatores indutores de apoptose como o pré-operatório, com o estresse psicológico e o jejum, e o intraoperatório, com o torniquete pneumático, os danos teciduais, o cimento ósseo e os agentes anestésicos usados durante a cirurgia.²²⁻²⁴ Alguns dos fatores iniciados anteriormente são mantidos no pós-operatório, mas alguns novos, incluindo a imobilização em longo prazo, a presença de implante e o manejo complexo da dor no pós-operatório com o uso de opioides fortes e de ação prolongada, também ocorrem. Em nosso estudo, imediatamente após o término da cirurgia e o fechamento da ferida cirúrgica, a porcentagem de linfócitos com características macroscópicas de apoptose foi significativamente maior do que no pré-operatório. No primeiro dia de pós-operatório, 24 horas após a cirurgia, o número de linfócitos apoptóticos também foi maior do que no pré-operatório, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Isso pode ser explicado pela forma de apresentação dos resultados – o número de linfócitos apoptóticos foi contado em 100 células consecutivas. Um número relativamente menor de linfócitos apoptóticos pode ser o resultado da ativação de linfopoiese e do aparecimento de novas células no sangue periférico. A confirmação dessa explicação é o aumento do número de todas as populações de linfócitos no sangue periférico no primeiro dia de pós-operatório. Uma porcentagem maior de linfócitos apoptóticos também foi observada sete dias após a cirurgia, em comparação com o período pré-operatório. Isso significa que fatores não apenas intraoperatórios, mas também pós-operatórios, podem afetar os processos de apoptose.

O efeito da técnica anestésica sobre a apoptose em linfócitos do sangue periférico foi o tópico de alguns ensaios clínicos. O efeito pró-apoptótico de anestésicos voláteis e intravenosos, anestésicos locais e opioides foi estabelecido *in vitro*.^{5,6} Em um dos estudos que compararam o efeito da anestesia geral e peridural em apoptose em linfócitos do sangue periférico nenhuma diferença foi encontrada nos pacientes submetidos à cirurgia abdominal.⁷ A diferença foi a população de pacientes; no estudo anterior, os pacientes foram submetidos à cirurgia abdominal para câncer de cólon não metastático. ATJ é um forte estímulo pró-apoptótico devido aos grandes danos teciduais, ao uso de torniquete pneumático, à perda sanguínea e à dor no pós-operatório. A escolha dos medicamentos usados no estudo, propofol e ropivacaína, teve uma discreta ou nenhuma influência sobre a apoptose em linfócitos do sangue periférico.

Conclusão

Durante o período pós-operatório existe linfopenia significativa que pode durar até sete dias. A magnitude desse fenômeno depende da população de linfócitos e, em grande parte, refere-se às células T CD3/8 e, em menor parte, às células CD3/4 e CD19 (células B). Esse fenômeno não é observado em relação às células NK (CD16/56). A mudança concomitante é o aumento da porcentagem de linfócitos com alterações apoptóticas observadas macroscopicamente. O processo de apoptose em linfócitos pode ser parcialmente responsável pela linfopenia no pós-operatório. A escolha da técnica anestésica, AG, RA ou CRP, nesse tipo de cirurgia em particular, não afeta o número de linfócitos apoptóticos.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

O estudo recebeu apoio financeiro da Universidade Médica de Bialystok, Bialystok, Polônia, Grant n°. 3-14594L. Os autores agradecem a Piotr Laskowski, do Instituto de Sociologia, Metodologia e Estatística da Universidade de Bialystok, pelas informações úteis e supervisão das análises estatísticas.

Referências

- Kirov SM, Shepherd JJ, Donald KD. Intraoperative and postoperative changes in peripheral white blood cell counts: the contribution of stress. *Aust N Z J Surg.* 1979;49:738-42.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972;26:239-57.
- Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007;35:495-516.
- Delogu G, Moretti S, Antonucci A, et al. Apoptosis and surgical trauma: dysregulated expression of death and survival factors on peripheral lymphocytes. *Arch Surg.* 2000;135:1141-7.
- Osman ES, Khafagy HF, Samhan YM, et al. In vivo effects of different anesthetic agents on apoptosis. *Korean J Anesthesiol.* 2012;63:18-24.
- Werdehausen R, Fazeli S, Braun S, et al. Apoptosis induction by different local anesthetics in a neuroblastoma cell line. *Br J Anesth.* 2009;103:711-8.
- Papadima A, Boutsikou M, Lagoudianakis EE, et al. Lymphocyte apoptosis after major abdominal surgery is not influenced by anesthetic technique: a comparative study of general anesthesia versus combined general and epidural analgesia. *J Clin Anesth.* 2009;21:414-21.
- Papadima A, Boutsikou M, Lagoudianakis EE, et al. Anesthetic technique for radical prostatectomy surgery affects cancer recurrence: a retrospective analysis. *Anesthesiology.* 2008;109:180-7.
- Wuethrich PY, Hsu Schmitz SF, Kessler TM, et al. Potential influence of the anesthetic technique used during open radical prostatectomy on prostate cancer-related outcome: a retrospective study. *Anesthesiology.* 2010;113:570-6.
- Tsui BC, Rashid S, Schopflocher D, et al. Epidural anesthesia and cancer recurrence rates after radical prostatectomy. *Can J Anesth.* 2010;57:107-12.
- Exadaktylos AK, Buggy DJ, Moriarty DC, Mascha E, Sessler DI. Can anesthetic technique for primary breast cancer surgery affect recurrence or metastasis? *Anesthesiology.* 2006;105:660-4.
- Zasady profilaktyki żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej w ortopedii i traumatologii narządu ruchu. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2009;11:86-92 [in Polish].
- Martin D, Lenardo M. Morphological, biochemical, and flow cytometric assays of apoptosis. *Curr Protoc Mol Biol.* 2001 [chapter 14: unit 14.13].
- Salo M. Effects of anesthesia and surgery on the immune response. *Acta Anesthesiol Scand.* 1992;36:201-20.
- Bartal I, Melamed R, Greenfeld K, et al. Immune perturbations in patients along the perioperative period: alterations in cell surface markers and leukocyte subtypes before and after surgery. *Brain Behav Immun.* 2010;24:376-86.
- Yadav K, Zehtabchi S, Nemes PC, et al. Early immunologic responses to trauma in the emergency department patients with major injuries. *Resuscitation.* 2009;80:83-8.
- Anderson JM, McNally AK. Biocompatibility of implants: lymphocyte/macrophage interactions. *Semin Immunopathol.* 2011;33:221-33.
- Ng CS, Lee TW, Wan S, et al. Thoracotomy is associated with significantly more profound suppression in lymphocytes and natural killer cells than video-assisted thoracic surgery following major lung resections for cancer. *J Invest Surg.* 2005;18:81-8.
- Wang ZY, Wang CQ, Yang JJ, et al. Which has the least immunity depression during postoperative analgesia-morphine, tramadol, or tramadol with lornoxicam? *Clin Chim Acta.* 2006;369:40-5.
- Conrick-Martin I, Kell MR, Buggy DJ. Meta-analysis of the effect of central neuraxial regional anesthesia compared with general anesthesia on postoperative natural killer T lymphocyte function. *J Clin Anesth.* 2012;24:3-7.
- Yamada R, Tsuchida S, Hara Y, Tagawa M, Ogawa R. Apoptotic lymphocytes induced by surgical trauma in dogs. *J Anesth.* 2002;16:131-7.
- Pehlivanoglu B, Bayrak S, Gurel EI, Balkanci ZD. Effect of gender and menstrual cycle on immune system response to acute mental stress: apoptosis as a mediator. *Neuroimmunomodulation.* 2012;19:25-32.
- Pires J, Curi R, Otton R. Induction of apoptosis in rat lymphocytes by starvation. *Clin Sci.* 2007;112:59-67.
- Granchi D, Ciapetti G, Filippini F, et al. Modulation of pro- and anti-apoptotic genes in lymphocytes exposed to bone cements. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2000;11:633-46.