



REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA

Official Publication of the Brazilian Society of Anesthesiology
www.sba.com.br



ARTIGO CIENTÍFICO

Efeito *in vitro* de Dexmedetomidina na Agregação Plaquetária

Emine Arzu Kose^{a,*}, Oral Nevruz^b, Mehtap Honca^c, Vedat Yildirim^d

^a Departamento de Anestesiologia e Reanimação, Faculdade de Medicina, Kirikkale University, Kirikkale, Turquia

^b Departamento de Hematologia, Gulhane Military Medical Academy, Ancara, Turquia

^c Departamento de Anestesiologia e Reanimação, Kecioren Teaching and Medical Research Hospital, Ancara, Turquia

^d Departamento de Anestesiologia e Reanimação, Gulhane Military Medical Academy, Ancara, Turquia

Recebido em 27 de agosto de 2012; aceito em 11 de setembro de 2012

PALAVRAS-CHAVE

ANALGÉSICOS,
Dexmedetomidina;
Agregação Plaquetária;
In Vitro

Resumo

Justificativa e objetivos: Dexmedetomidina é um α_2 -agonista seletivo. Há 250-300 receptores α_2 -adrenérgicos na superfície de cada uma das plaquetas humanas e a efedrina induz a agregação das plaquetas por ligação desses receptores. Este estudo foi desenvolvido para estudar a função plaquetária após incubação com concentrações terapêuticas de dexmedetomidina.

Métodos: O estudo foi conduzido com 18 homens saudáveis, não fumantes, com idades entre 25 e 35 anos. Porque o intervalo recomendado de concentração terapêutica de dexmedetomidina, obtido por infusão intravenosa, é de 0,4-1,2 ng.mL⁻¹, as soluções de dexmedetomidina foram preparadas em três concentrações diferentes. Os valores calculados da solução de dexmedetomidina e do diluente sem dexmedetomidina (controle) foram adicionados a uma amostra de sangue. Assim, 0; 0,4; 0,8 e 1,2 ng.mL⁻¹ de concentrações plasmáticas de dexmedetomidina foram obtidas. Cada concentração de dexmedetomidina foi incubada com sangue total a 37 °C durante 15 minutos. Em seguida, as amostras de sangue foram centrifugadas para preparar o plasma rico em plaquetas e o plasma pobre em plaquetas. O plasma rico em plaquetas foi diluído com o plasma pobre em plaquetas para gerar o teste de plasma rico em plaquetas com uma contagem final de plaquetas de $250 \pm 50 \times 10^9.L^{-1}$.

Resultados: As amplitudes e os declives da agregação plaquetária foram estatisticamente semelhantes entre todos os grupos nos testes de agregação feitos com ADP, colágeno ou adrenalina.

Conclusão: As concentrações terapêuticas de dexmedetomidina não tiveram efeito *in vitro* nas funções plaquetárias de indivíduos saudáveis.

© 2013 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

*Autor para correspondência. Department of Anesthesiology and Reanimation, School of Medicine, Kirikkale University, 71100, Kirikkale, Turkey.

E-mail: arzuhct@hotmail.com (E.A. Kose)

0034-7094/\$ - see front matter © 2013 Sociedade Brasileira de Anestesiologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjan.2012.09.006>

Introdução

Dexmedetomidina é um α_2 -agonista seletivo, cuja indicação no rótulo é de uso para sedação em unidade de terapia intensiva (UTI). Dexmedetomidina pode proporcionar sedação cooperativa associada à depressão respiratória mínima e analgesia.^{1,2} Essas propriedades tornam o fármaco útil em muitas situações clínicas, que incluem a sedação de pacientes internados em UTI, nos quais a capacidade de fazer exame neurológico frequente tem importância clínica. Além disso, por causa dessas mesmas propriedades, o uso desse agente pode ser vantajoso em procedimentos relacionados ao sistema nervoso central, tais como craniotomia com o paciente acordado, endarterectomia de carótida com anestesia regional, angioplastia coronariana e implante de *stent*.^{1,3} Também pode ser preferido como um adjuvante em anestesia geral por causa da possibilidade de extubação precoce e recuperação mais rápida das funções cognitivas. Dessa forma, é possível revelar os déficits neurológicos pós-operatórios adicionais em período pós-operatório precoce.⁴ Os pacientes internados em UTI geralmente recebem medicações concomitantes, como vasoconstritores, vasodilatadores, digoxina, diuréticos, beta-bloqueadores, aspirina e heparina de baixo peso molecular, que possivelmente têm efeitos na função plaquetária. Por outro lado, sabemos que existem 250-300 receptores α_2 -adrenérgicos na superfície de cada uma das plaquetas humanas e que a efedrina ativa as plaquetas e induz agregação por ligação desses receptores.⁵ Efedrina, cuja função é principalmente a de sensibilizar as plaquetas a outros agentes de ativação, é considerada um agonista fraco das plaquetas.⁶⁻⁹ Por causa da possibilidade de aumento do risco de hemorragia pelas interações medicamentosas, é importante esclarecer os efeitos de dexmedetomidina na função plaquetária, porque outros medicamentos podem ter efeitos aditivos na função das plaquetas. O objetivo deste estudo foi estudar a função plaquetária após incubação com concentrações terapêuticas de dexmedetomidina em voluntários saudáveis.

Materiais e métodos

Após obter a aprovação do Comitê de Ética local e o consentimento informado assinado, o estudo foi conduzido com 18 homens saudáveis, não fumantes, com idades entre 25 e 35 anos (média \pm DP = 28,32 \pm 4,35 anos). Os critérios de exclusão foram indivíduos com contagem anormal de plaquetas, história de trombose ou sangramento anormal, neoplasia ou doença inflamatória ativa. Todos os estudos foram feitos na parte da manhã, com os voluntários em jejum durante a noite, e constatamos que não tomaram qualquer droga nas duas semanas anteriores ao teste. As amostras de sangue venoso foram coletadas da veia da fossa antecubital, sem aplicação de torniquete e com agulha de calibre 20G. As amostras foram anticoaguladas com solução de 0,130 M de citrato de sódio a 3,8% (proporção de sangue para anticoagulante de 9:1). Não houve hemólise nas amostras, que foram mantidas à temperatura ambiente e testadas dentro de 60 minutos após a coleta. A contagem de plaquetas foi feita por meio de um dispositivo automatizado (Abbott Cell-Dyne 4000, Abbott Park, Chicago, IL, EUA).

Como a variação recomendada da concentração terapêutica de dexmedetomidina obtida por infusão intravenosa é de 0,4-1,2 ng.mL⁻¹ (Precedex® SPC; Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, EUA), preparamos as soluções de dexmedetomidina em três concentrações diferentes, que totalizaram 0,4 ng.mL⁻¹; 0,8 ng.mL⁻¹ e 1,2 ng.mL⁻¹ de dexmedetomidina com o uso de cloreto de sódio a 0,9% como diluente. Um diluente sem conter dexmedetomidina foi usado como controle. Após determinar os valores da contagem de hematócritos, dividimos as amostras de sangue em quatro partes iguais. De acordo com a quantidade de plasma (derivado de hematócrito), adicionamos o valor calculado da solução de dexmedetomidina e do diluente controle à amostra de sangue (1 μ L de solução para 1 mL de plasma) e obtivemos 0; 0,4; 0,8 e 1,2 ng.mL⁻¹ de concentrações plasmáticas de dexmedetomidina. Cada concentração de dexmedetomidina foi incubada com sangue total a 37°C. Após incubação por 15 minutos, as amostras de sangue foram centrifugadas (100 g, 10 minutos) para isolar o plasma rico em plaquetas (PRP) do sobrenadante. Centrifugamos novamente o restante do sangue (2.400 g, 20 minutos) para preparar o plasma pobre em plaquetas (PPP). O PRP foi diluído com o PPP para produzir o teste de PRP com uma contagem final de plaquetas de 250 \pm 50 \times 10⁹.L⁻¹. A agregação foi feita com o uso do método turbidimétrico (Chrono-log Corporation, modelo 560-Ca, Havertown, PA, EUA), de acordo com o protocolo da Chrono-log Corporation. De forma aleatória, mudamos as sequências nas quais diferentes diluições foram estudadas na agregação, que eram desconhecidas pelas pessoas que fizeram os estudos. Avaliamos a resposta da agregação plaquetária com adenosina-difosfato (ADP) (5 e 10 μ M, concentrações finais), colágeno (3 μ g.mL⁻¹, concentração final) e adrenalina (10 μ M, concentração final). Obtivemos agentes de agregação plaquetária da Chrono-log Corporation. O dispositivo calculou as curvas de dose-resposta automaticamente e as avaliou com o uso de amplitude e declive.

Análise estatística

Analisamos os dados com o uso do software estatístico SPSS 11.5 (SPSS Inc. Software, Chicago, IL, EUA). Como os dados não apresentaram distribuição normal e as variações não foram homogêneas entre os grupos, usamos a análise de variância para medidas repetidas de Friedman para comparar a resposta da agregação plaquetária ao ADP, ao colágeno ou à adrenalina entre a solução controle e cada solução de dexmedetomidina. Todos os dados foram apresentados como mediana e variação. Consideramos um valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

Resultados

As amplitudes e os declives da agregação plaquetária foram estatisticamente semelhantes entre todos os grupos, de acordo com o teste de agregação feito com ADP, colágeno e adrenalina (tabela 1).

Discussão

Dexmedetomidina, o enantiômero dextrógiro de medetomidina, é um agonista potente e altamente seletivo dos receptores α_2 -adrenérgicos.¹⁻³ Esse fármaco é 8-10 vezes mais potente do que clonidina para os receptores α_2 -adrenérgicos.

Tabela 1 Resultados da Agregação Plaquetária e Comparação Estatística dos Quatro Grupos

	Parâmetro	Controle Média ± DP	Dex-0,4 ng.mL ⁻¹ Média ± DP	Dex-0,8 ng.mL ⁻¹ Média ± DP	Dex-1,2 ng.mL ⁻¹ Média ± DP	valor p
Colágeno	Amp (%)	59 ± 18	64 ± 19	66 ± 21	65 ± 23	0,070
3 µg.mL ⁻¹	Declive	99,44 ± 34,14	96,72 ± 37,40	101,88 ± 43,26	97,66 ± 34,91	0,906
ADP	Amp (%)	61 ± 10	63 ± 12	62 ± 10	61 ± 10	0,776
5 µM	Declive	74,83 ± 26,76	85,33 ± 24,44	86,22 ± 18,67	83,50 ± 20,24	0,064
ADP	Amp (%)	62 ± 16	63 ± 11	63 ± 18	62 ± 14	0,633
10 µM	Declive	87,55 ± 20,26	85,72 ± 18,95	96,27 ± 44,94	82,55 ± 26,82	0,795
Adrenalina	Amp (%)	60 ± 09	63 ± 12	63 ± 12	60 ± 12	0,737
10 µM	Declive	86,55 ± 36,59	89,16 ± 39,77	96,27 ± 44,94	98,22 ± 38,83	0,280

ADP, adenosina-difosfato; Amp, amplitude; Dex, dexmedetomidina.

Análise de variância para medidas repetidas de Friedman foi usada. Os dados foram expressos como média ± DP. $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Por causa dessa potência, dexmedetomidina é considerada um agonista completo dos receptores α_2 -adrenérgicos, o que pode permitir a sua aplicação em doses relativamente altas para sedação e analgesia sem os efeitos vasculares indesejáveis da ativação dos receptores α_1 -adrenérgicos.¹⁻³ Além de sua administração em UTI como agente sedativo-analgésico, há alguns estudos que avaliaram doses baixas de dexmedetomidina como adjuvante da anestesia em cirurgias cardíacas e não cardíacas.^{10,11} Por outro lado, as plaquetas humanas têm 250-300 receptores α_2 -adrenérgicos em suas superfícies. Efedrina ativa as plaquetas e induz sua agregação por ligação desses receptores.⁵ Os receptores alfa-adrenérgicos de plaquetas humanas são exclusivamente do subtipo α_2A .¹¹ *In vitro*, a estimulação plaquetária dos receptores β_2 -adrenérgicos atenua a agregação por meio do aumento da concentração de AMPc intracelular e a resposta agregatória à epinefrina pode ser melhorada pelo bloqueio não seletivo por causa do estímulo sem oposição dos receptores α_2 -adrenérgicos.^{13,14} Especula-se que o aumento de catecolaminas pode desencadear um estado de hipercoagulabilidade e aumentar as chances de trombose em pacientes com doença aterosclerótica e hipertensão.¹⁵⁻¹⁸ Martins e col. avaliaram os efeitos de dexmedetomidina na coagulação do sangue com o uso de tromboelastografia e concluíram que dexmedetomidina aumentou significativamente o tempo de reação e diminuiu o índice de coagulação nos traçados finais em relação aos valores basais. Os autores relataram que, apesar de o efeito hipocoagulante de dexmedetomidina ter sido leve, a coagulação permaneceu dentro da variação normal.¹⁹ Embora seja sensato pensar que o efeito de dexmedetomidina pode ser reduzido em eventos trombóticos durante uma cirurgia, estimule o sistema nervoso simpático e leve ao aumento dos níveis de catecolaminas, ela nunca deve ser usada como agente único em pacientes submetidos à cirurgia ou internados em UTI. Portanto, é importante esclarecer os efeitos de dexmedetomidina na função plaquetária e o uso de outros medicamentos que podem ter possíveis efeitos aditivos na função plaquetária. A ideia de conduzirmos este estudo foi porque não encontramos na literatura publicada em inglês qualquer investigação relacionada aos efeitos de dexmedetomidina na função plaquetária.

Um estudo que investigou os efeitos de clonidina e seu análogo para-aminoclonidina mostrou que ambos os agentes potenciaram a agregação plaquetária induzida por uma concentração submáxima de ADP e a agregação induzida por adrenalina de forma dose-dependente. Stamp e col.

concluíram que esses dois agentes são agonistas parciais dos receptores α_2 -adrenérgicos das plaquetas no sangue e que esses receptores existem predominantemente em estado de baixa afinidade na célula intacta.²⁰ Da mesma forma, Petruszewicz e col. testaram 16 drogas derivadas de imidazol quanto aos efeitos agregadores e antiagregadores em plaquetas de humanos e descobriram uma inibição significativa da agregação induzida por adrenalina, de forma dose-dependente, com o uso de clonidina em seu estudo.²¹ Outro estudo demonstrou que a agregação induzida por ADP foi potencializada por clonidina de forma superior ou igual à adrenalina.²² No presente estudo, a dosagem terapêutica recomendada de dexmedetomidina foi usada *in vitro* e não encontramos qualquer diferença estatisticamente significativa na resposta da agregação plaquetária ao ADP (5 e 10, concentrações finais), colágeno (3 µg.mL⁻¹, concentração final) e adrenalina (10 µM, concentração final). Embora seja 8-10 vezes mais potente do que a clonidina para receptores α_2 -adrenérgicos, a falta de potencialização da agregação plaquetária com o uso de dexmedetomidina pode ser explicada pelas baixas doses desse fármaco. Além disso, nota-se que o aumento da agregação plaquetária obtido com clonidina em estudos anteriores também foi dose-dependente. Relatos recentes mostram que os agentes α -adrenérgicos imidazóis inibem a agregação induzida por adrenalina em plaquetas caninas de forma mais eficaz do que os não imidazóis.²³ Em relato anterior, os locais de ligação preferidos por imidazol não adrenérgico foram mostrados em plaquetas humanas.²⁴ Como tanto clonidina quanto dexmedetomidina têm uma estrutura de imidazol, ela não pode ser responsável por essa situação. Embora os resultados dos testes de agregação plaquetária não tenham sido diferentes com a dosagem terapêutica de dexmedetomidina em comparação com o grupo de controle neste estudo, esses resultados podem apresentar um aumento da agregação das plaquetas com o uso de doses elevadas de um agente como clonidina. Porque a dexmedetomidina pode causar efeitos cardiovasculares indesejáveis com o uso de overdoses em administração clínica, preferimos estudar apenas a dosagem recomendada desse agente.

Em conclusão, quando usamos a dosagem recomendada em concentrações semelhantes, dexmedetomidina não teve efeito *in vitro* na função plaquetária em indivíduos saudáveis. Contudo, a função plaquetária pode ser afetada por vários mecanismos patológicos e fisiológicos adicionais na administração clínica. Portanto, dexmedetomidina deve ser

usada com cautela, especialmente se houver a administração concomitante de outros medicamentos que possam alterar a função plaquetária.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

- Maze M, Tranquilli W - Alpha-2 adrenoceptor agonists. Defining the role in clinical anesthesia. *Anesthesiology*. 1991;74:581-605.
- Afonso J, Reis F - Dexmedetomidine: current role in anesthesia and intensive care. *Rev Bras Anesthesiol*. 2012;62:118-133.
- Bhana N, Goa KL, McClellan KJ - Dexmedetomidine. *Drugs*. 2000; 59:263-268.
- Ozkose Z, Demir FS, Panpal K et al. - Hemodynamic and anesthetic advantages of dexmedetomidine, an α_2 -agonist, for surgery in prone position. *Thaku J Exp Med*. 2006;210:153-160.
- Kerry R, Scrutton MC, Wallis RB - Mammalian platelet adrenoceptors. *Br J Pharmacol*. 1984;81:91-102.
- Ardlie NG, McGuinness JA, Garret JJ - Effect on human platelets of catecholamines at levels achieved in the circulation. *Atherosclerosis*. 1985;58:251-259.
- Kottke-Marchant K, Corcoran G - The laboratory diagnosis of platelet disorders: an algorithmic approach. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126:133-146.
- Hjendahl P, Chronos NAF, Wilson DJ et al. - Epinephrine sensitizes human platelets in vivo and in vitro as studied by fibrinogen binding and selectin expression. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:77-84.
- Rand ML, Leung R, Packam MA - Platelet function assays. *Transfus Apher Sci*. 2003;28:307-317.
- Aho M, Lehtinen AM, Erkola O et al. - The effect of intravenously administered dexmedetomidine on perioperative hemodynamics and isoflurane requirements in patients undergoing abdominal hysterectomy. *Anesthesiology*. 1991;74:997-1002.
- Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A et al. - Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. *Anesthesiology*. 1997;86:331-345.
- Virtanen R, Savola J-M, Saano V et al. - Characterization of the selectivity, specificity, and potency of medetomidine as an α_2 -adrenoceptor agonist. *Eur J Pharmacol*. 1988;150:9-14.
- Winther K, Klysner R, Geisler A et al. - Characterization of human platelet beta-adrenoreceptors. *Thromb Res*. 1985;40:757-767.
- Hjemdahl P, Larsson PT, Wallen NH - Effects of stress and beta-blockade on platelet function. *Circulation*. 1991;84(6suppl):V144-V161.
- Grant JA, Scrutton MC - Interaction of selective α -adrenoceptor agonists and antagonists with human and rabbit blood platelets. *Br J Pharmacol*. 1980;71:121-134.
- Kambayashi J-I, Shinoki N, Nakamura T et al. - Prevalence of impaired responsiveness to epinephrine in platelets among Japanese. *Thromb Res*. 1996;81:85-90.
- Von Kanel R, Dimsdale JE - Effects of sympathetic activation by adrenergic infusions on hemostasis in vivo. *Eur J Hematol*. 2000;65:357-369.
- Petidis K, Douma S, Doumas M et al. - The interaction of vasoactive substances during exercise modulates platelet aggregation in hypertension and coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord*. 2008;27;8:11.
- Martins CR, Tardelli MA, Amaral JL - Effects of dexmedetomidine on blood coagulation evaluated by thromboelastography. *Rev Bras Anesthesiol*. 2003;53:705-719.
- Stump DC, Macfarlane DE - Clonidine and para-aminoclonidine, partial agonists for the alpha2-adrenergic receptor on intact human blood platelets. *J Lab Clin*. 1983;102:779-787.
- Petrusewicz J, Kaliszan R - Human blood platelet alpha adrenoceptor in view of the effects of various imidazol(in)e drugs on aggregation. *Gen Pharmacol*. 1991;22:819-823.
- Hsu CY, Knapp DR, Halushka PV - The effects of alpha adrenergic agents on human platelet aggregation. *J Pharmacol Exp Ther*. 1979;208:366-370.
- Hikasa Y, Abe M, Satoh T et al. - Effects of imidazoline and non-imidazoline alpha-adrenergic agents on canine platelet aggregation. *Pharmacology*. 1999;58:171-182.
- Piletz JE, Sletten K - Nonadrenergic imidazoline-binding sites on human platelets. *J Pharmacol Exp Ther*. 1993;267:1493-502.