

## Propofol 농도에 따른 말초혈액 단핵세포의 세포독성 평가

가톨릭대학교 의과대학 마취과학교실, \*소아과학교실

송 호 경 · 정 대 철\*

= Abstract =

### The Effect of Propofol on Cytotoxicity of Lipopolysaccharide Treated Mononuclear Cells

Ho-Kyung Song, M.D., and Dae Chul Jeong, M.D.\*

Departments of Anesthesiology and \*Pediatrics, College of Medicine,  
The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

**Background:** Trauma, surgical stress, and anesthesia are often associated with postoperative immune suppression and an increased susceptibility to infection. The role of propofol in a patient who may be at the risk of impaired immune function is contradictory. To access the possible role of propofol on human immune function, we investigated the cytotoxic activity of mononuclear cells from peripheral blood.

**Methods:** Healthy human mononuclear cells (MNCs) were isolated and stimulated with lipopolysaccharide (LPS) for 5 hrs. Activated MNCs were cultured in the presence of varying concentrations of propofol for 20 hrs and lactate dehydrogenase (LDH) release was measured to evaluate MNC cytotoxicity against K-562 cell target cells (cell to target 40 : 1).

**Results:** Propofol exposure at concentrations of 1, 5 and 10µg/ml did not significantly affect LDH release from K-562 cells, but the cytotoxic activity of MNCs was significantly suppressed at a concentration of 50µg/ml. (P < 0.01)

**Conclusions:** Since the concentrations of 1, 5 and 10µg/ml of propofol are in the clinically acceptable range for sedation and anesthesia, this result suggest that propofol does not significantly alter the cytotoxicity of MNCs in septic conditions. (**Korean J Anesthesiol 2003; 44: 482~487**)

**Key Words:** Cytotoxicity; immune response; K-562 cell line; LDH; mononuclear cell; propofol.

### 서 론

면역체계가 정상인 사람에서도 외상이나 수술로 인한 스트레스, 마취 등은 수술 후의 면역기능에 영

향을 주어 면역억제 상태를 만든다고 알려져 있으며<sup>1,2)</sup> 대 수술일수록 더욱 심하게 면역억제가 된다고 한다.<sup>3)</sup> 이러한 술 후의 면역억제 상태는 특히 감염에 취약한 환자에서 합병증의 발생이나 사망률을 증가시킬 수 있으며<sup>4)</sup> 종양 제거술 후에 남아있는 암세포의 미세 확산 등에도 영향을 미친다는 연구들이 보고되고 있다.<sup>2)</sup>

논문접수일 : 2002년 10월 9일  
책임저자 : 송호경, 인천광역시 부평구 부평동 665  
성모자애병원 마취과, 우편번호: 403-016  
Tel: 032-510-5518, 5665, Fax: 032-510-2718  
E-mail: song@olmh.cuk.ac.kr

본 논문은 가톨릭중앙의료원 학술연구조성비로 이루어 졌음.

최근 중환자 치료에 있어 집중치료의 질을 높이기 위한 환자의 수면이나 진정 상태 등이 중요 시 되면서 인공 호흡기로 기계환기 보조 시 진정목적 등으

로 정맥마취제인 propofol이나 진정제인 midazolam을 투여하는 경우가 많아지고 있다. 그러나 수술 전후의 여러 가지 원인들로 면역기능에 이상이 와 있는 상태의 환자들에게 중환자실에서의 치료는 더욱 감염으로 인한 질환의 예후에 대해 재고를 해야 하는 상황이 되었다. 즉 마취제나 수술의 스트레스는 natural killer (NK) 세포의 세포 독성, 림프구의 반응, 단핵세포의 포식작용이 억제되는 결과를 가져와 병원감염의 위험성이 그만큼 높아지기 때문이다. 이미 일반적인 흡입마취제와 ketamine, midazolam 등은 염증세포에서 유리되는 cytokine을 억제하거나 방해하여 수술 후 감염을 증가시키는 등 회복에 나쁜 영향을 준다고 보고되고 있다.<sup>5)</sup> 그러나 최근 관심을 받고 있는 propofol이 면역기능에 미치는 영향은 논란이 여지가 많으며 아직 확실하게 정의되어진 바가 없다. 즉, propofol이 호중구의 기능을 방해하며,<sup>6-8)</sup> cytokine 유리에도 영향을 주지만,<sup>9)</sup> 다른 마취제들과 비교하면 면역기능에 미치는 영향이 적다고 보고되고 있다.<sup>10-12)</sup> 그러나 수술을 위한 단시간의 투여가 아니라 중환자실의 집중치료를 위한 진정목적으로 장시간 동안 propofol에 노출될 경우 특히 이미 패혈증 등의 면역체계에 이상이 일어난 경우에 propofol이 면역기능을 어떻게 변화시키는지에 대해서는 아직 보고된 바 없다. 저자들은 전신적으로 심한 염증반응이 일어난 다음에도 propofol이 말초혈액 내 단핵세포의 세포독성을 변화시켜 면역 억제를 초래하는지를 알아보기 위해 실험적으로 lipopolysaccharide (LPS)을 이용하여 패혈증 상태와 유사한 환경에서 단핵세포를 배양한 다음 표적세포인 K-562에서 유리되는 LDH (lactate dehydrogenase)를 측정하여 검토하여 보았다.

## 대상 및 방법

### 세포분리

가톨릭 중앙의료원 임상연구 관리규정을 준수하여 미국 마취과학회 신체등급 분류 1, 2에 속하는 건강한 성인 남녀 10명으로부터 25 ml의 정맥혈을 헤파린 튜브에 채취하여 동량의 phosphate buffered saline (PBS)을 혼합한 후 다시 동량의 histopaque를 혼합, Ficoll-Hypaque density gradient centrifugation 방법으로 단핵세포만을 분리하였다. 분리된 단핵세포들은 PBS

로 2번 세척한 후, 다시 조직배양액으로 한번 더 세척하여 trypan blue dye exclusion test로 viability와 함께 세포 수를 세어서 약  $3 - 4 \times 10^7$  cells/ml 정도의 단핵세포를 준비 할 수 있었다. 조직배양액은 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS, GibcoBRL, NY, USA) 2 mM L-glutamine, 100 U/ml streptomycin이 포함된 RPMI 1640 배양액(RPMI 1640, Gibco-BRL)으로 phenol red와 sodium bicarbonate가 들어 있지 않은 것을 선택하여 이용하였다.

### 단핵세포에 대한 LPS와 propofol 처리

준비된 단핵구는 패혈증에서의 Effector cell로서 최대 세포독성효과(full activation for cytotoxicity)를 얻기 위해 자극제인 LPS(lipopolysaccharide, serotype: E.coli 055: B5, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)을 1 $\mu$ g/ml의 농도로 혼합한 배양액에서 5시간 동안 5% CO<sub>2</sub>가 포함된 온도 37°C, 습도 90%의 공기에서 배양하였다. 이후 이를 원심 분리하여 단핵세포만을 분리, 세척한 후 다시 배양하였는데 이때 propofol이 단핵세포의 세포독성 능력을 변화시키는지 볼 수 있도록 대조군은 배양액만으로, 실험군은 배양액에 1 $\mu$ g/ml, 5 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml와 50 $\mu$ g/ml의 농도로 propofol을 배양액에 혼합하여 다시 20시간동안 배양하였다.

### 세포주 준비

단핵세포의 표적세포(target cell)로는 erythroleukemic cell line인 K-562 세포주(ATCC, Rockville, MO, USA)을 이용하였다. 액화질소에 냉동되어 있던 세포는 37°C의 물에 중탕으로 녹인 후, 배양액을 혼합하여 원심분리하고 trypan blue dye exclusion test로 viability와 함께 세포 수를 세어서 역시 단핵세포 배양 시와 같은 RPMI 배양액, 같은 조건에서 배양하였고, 25 culture flask를 사용하였으며, 배양액을 3일에 한 번씩 교환하였다. 실험 전에 다시 trypan blue dye exclusion test를 하여 세포 수를 확인하여 실험에 충분한 양으로 배양이 되었는지를 확인하고 사용하였다.

### LDH release cytotoxic assay

단핵세포의 세포독성에 propofol이 영향을 미치는지는 단핵세포의 공격으로 죽은 K-562 세포로부터 상층액에 유리된 LDH를 modified lactate dehydro-

genase (LDH) release assay를 이용하여 측정하였다. 96-hole well U-bottom culture plate에 K-562를  $1 \times 10^4/100\mu\text{l}$  되도록 세포 수를 조정하여 단핵세포  $4 \times 10^5/100\mu\text{l}$ 와 함께(cell to target 40 : 1) triplicate well에 넣어 5% CO<sub>2</sub>가 포함된 습도 90%, 37°C의 공기에서 4시간동안 반응시켰다. 같은 방법으로 spontaneous LDH 측정을 위한 well에는 배양액을 첨가하고 maximum LDH well에는 triton X-100 용액을 첨가하여 배양하였다. 이후 원심 분리하여 상층액 100  $\mu\text{l}$  만을 채취하여 ELISA (microtiter plate reader, Roche, Mannheim, Germany)를 이용한 LDH release assay를 하였는데 우선 시약(LDH substrate mixture)을 100 $\mu\text{l}$  첨가하고 빛을 차단한 상태에의 실온(15-25°C)에서 30분 반응시킨 후, stop solution인 1N HCl 50 $\mu\text{l}$ 로 반응을 중지시켜 490-492 nm의 흡광도에서 측정하였다. 독성의 백분율(% of cytotoxicity)은 각각의 배양액으로부터 유리된 LDH로 다음과 같은 공식을 이용하였다.

$$\% \text{ of cytotoxicity} = \frac{\text{LDH}_{\text{experimental}} - \text{LDH}_{\text{effector cells}} - \text{LDH}_{\text{spontaneous}}}{\text{LDH}_{\text{maximal}} - \text{LDH}_{\text{spontaneous}}} \times 100$$

The LDH release activity resulting from cells at each defined concentration of propofol

LDH<sub>experimental</sub>: resulting from coculture of effector cells and target cells

LDH<sub>effector cells</sub>: resulting from separately cultured effector cells

LDH<sub>spontaneous</sub>: resulting from separate cultures of K-562 cells (low control)

LDH<sub>maximal</sub>: resulting from total lysis of K-562 cells by triton X-100 (high control)

모든 측정치는 평균  $\pm$  표준편차로 표시하였고 통계처리는 Sigma-Stat (Version 2.03, SPSS, USA)을 사용하였다. 통계 방법으로 one way analysis of variance를 이용하였으며 대조군과의 다중비교는 Dunnett's 방법으로 하고 P값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

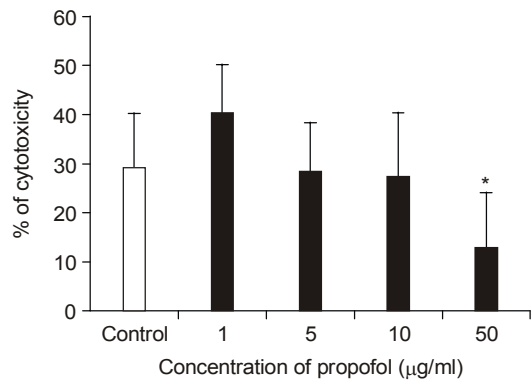


Fig. 1. The percentage of cytotoxicity of LPS-treated MNC against K-562 cells at different concentrations of propofol. Cytotoxic activity was significantly decreased by the addition of propofol 50 $\mu\text{g/ml}$  in the culture media. Control, no drug added. Values are mean  $\pm$  SD. \*P < 0.05 versus control.

LPS로 자극된 단핵세포가 공격하는 표적세포로서 이용된 K-562세포로부터 유리된 LDH로 계산된 세포독성은 구간 차이를 보였으며(P = 0.004), 각각의 배양액에 첨가된 propofol의 농도에 따라서 1 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 40.0  $\pm$  9.9%, 5 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 28.5  $\pm$  9.9%, 10 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 27.4  $\pm$  13.1%의 세포독성을 보여 대조군의 29.2  $\pm$  11.1%와 차이를 보이지 않았으나, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 고농도에서는 12.8  $\pm$  11.5%로 유의하게 세포독성이 감소함을 볼 수 있었다(P < 0.05)(Fig. 1).

고 찰

수술이나 마취로 인한 술 후 면역기능의 저하는 환자의 예후에 영향을 주는 중요한 인자중의 하나로 특히 면역기능에 이상이 와 있다고 할 수 있는 악성 종양, 면역에 영향을 주는 약물의 투여, 패혈증 등의 상태에서는 면역 방어기전에 관여하는 단핵세포, 림프구 등의 적절한 반응을 기대하기 어렵다고 볼 수 있다.<sup>2,5)</sup> 본 연구에서는 LPS를 이용한 실험적인 패혈증 상태에서 사람의 단핵세포가 propofol에 장시간 노출되었을 때 세포독성에 영향을 받는지를 알아보았는데 K-562 세포로부터 유리된 상층액의 LDH로 세포독성을 평가해 본 결과, propofol의 임상적인 허용농도에서 본 실험에서의 배양 시간인 20시간까지는 단핵세포의 세포독성에 영향을 미치지 않는다는

것을 알 수 있었다.

임상적으로 대부분의 마취제는 면역 기능을 억제한다고 보고되어 왔다. 전신 마취제로서 가장 많이 선택되는 흡입마취제는 말초 혈액 단핵세포의 cytokine의 유리를 억제하는데<sup>13)</sup> 특히 sevoflurane 마취 시 isoflurane이나 enflurane 마취에 비해 cytokine 유리가 더욱 억제된다고 한다.<sup>5)</sup> 정맥으로 투여되는 midazolam도(0.08 mg/kg) LPS에 의하여 자극된 단핵세포에서 유리되는 cytokine의 생성을 방해하며,<sup>14)</sup> Ketamine 역시 LPS가 투여된 실험동물에서 대식세포에서의 TNF- $\alpha$  유리를 억제한다고 하였다.<sup>15)</sup> Etomidate는 실험적으로는 T 림프구 억제를 보이지 않으나 생체 내에서는 임상 농도에서 면역기능의 억제가 일어나므로 중환자치료에 있어 사망률을 높이는 요인이 될 수 있다고 하며<sup>16)</sup> 그 외 thiopentone을 비롯한 barbiturate는 신경외과 환자들에게 자주 쓰이는 약이지만 역시 골수의 기능과 림프구 억제를 일으켜 감염에 대한 저항을 떨어뜨린다고 하였다.<sup>17,18)</sup> Opioid의 경우 morphine은 동물실험에서는 대식작용을 방해하여 감염을 증가시키고<sup>19)</sup> 일시적으로 세포독성을 감소시킨다고 하는데<sup>20)</sup> fentanyl의 경우만 사람에게 지속적으로 주사해도 오히려 NK세포의 세포독성을 증가시킬 수 있었다는 보고도 있었다.<sup>21)</sup>

Propofol은 지질용해도가 높고 배설반감기가 짧으며, 비활성 대사 산물을 생성하는 약동학적 특성 때문에 외래마취 도입과 유지에 많이 이용하고 있다.<sup>22)</sup> 또한 propofol은 실험적으로도 항산화(antioxidant) 효과가 있는 것으로 알려져 있어 지질 과산화물(lipid peroxide)형성을 억제하기도 하고 생체 내 항산화 물질인 glutathione을 보강하므로 뇌, 심혈관 질환 등의 산화성 스트레스 위험이 높은 경우 유용하다고 한다.<sup>23)</sup> 최근에는 중환자실에서 진정을 위해 midazolam과 함께 오랜 시간동안 투여되는 경우가 많이 있는데 이때 감염에 대한 신체 방어에 어떤 영향을 미치는지에 대해서는 주로 cytokine에 대한 보고가 많았다. Propofol이 midazolam과 마찬가지로 호중구의 기능을 억제하고 cytokine 유리를 감소시켜<sup>9)</sup> 수술 후 면역억제 상태를 더욱 악화시킨다는 보고가<sup>6-8)</sup> 있지만 대부분 술 후 면역 억제에 다른 마취제들에 비해 덜 영향을 준다는 보고들이 많다. 즉, propofol은 T 림프구의 작용을 억제하지 않으며<sup>24)</sup> 염증반응 등에 의한 림프구 증식에도 영향을 주지 않

는다고 하여 면역기능이 이미 떨어져 있는 환자가 장시간 수술을 받거나 중환자실에서 호흡기 치료가 필요할 때 진정을 위한 보조요법으로 추천하기도 한다.<sup>10,25)</sup> Propofol은 일반적인 마취 시 도달할 수 있는 농도인 10 $\mu$ g/ml에서 정상인의 단핵세포를 배양했을 경우 대조군에 비해 helper T 세포의 면역기능을 향상시켰고,<sup>11)</sup> thiopental, methohexital, etomidate 등은 세포분열 촉진물질에 의해 T 림프구의 증식이 감소되는데 반해, propofol은 별 영향이 없었다고 한다.<sup>10)</sup> 임상적으로도 종양 제거술을 위해 propofol로 마취한 경우는 NK 세포의 세포독성을 증가시켜 전이의 가능성이 높은 환자에서 유리하다는 보고도 있다.<sup>12)</sup> 또한 propofol, sufentanil로 마취한 담낭절제술 환자에서는 혈 중 cytokine의 증가를 볼 수 없었던<sup>26)</sup> 반면, isoflurane으로 마취한 환자들에 비해 항염증성 cytokine인 IL-10은 의미 있게 상승하였다고 하였다.<sup>27)</sup> 특히 실험적으로는 LPS를 이용하여 패혈증 상태를 만든 쥐에서 조기에 propofol을 투여할 경우 더 사망율이 낮았다는 보고까지도 있어<sup>28)</sup> 다른 마취제와는 달리 propofol은 수술 후의 면역기능에 이로운 면이 있는 것으로 보이는데 본 연구에서도 패혈증 상태에서도 propofol의 임상 마취 농도라 할 수 있는 10 $\mu$ g/ml에서 20시간까지는 단핵세포의 세포독성이 정상과 같은 정도로 유지되는 것을 볼 수 있어 임상적으로 진정 상태의 유지와 같이 비교적 장시간의 투여가 필요할 때 유리할 것으로 보인다.

K-562 세포주(erythroleukemia cell line)는 사람의 NK세포의 표적세포로 여러 연구에서 세포매개 세포독성(cell-mediated cytotoxicity)을 검토하는데 가장 많이 이용되는 세포로서<sup>29)</sup> 세포독성을 측정하기 위해서는 대부분 <sup>51</sup>Cr을 측정하지만 본 연구에서는 K-562로부터 유리된 LDH를 측정하였다. LDH는 세포질에 있는 비교적 안정적인 효소로서 원형질막이 파괴되면 즉시 세포배양액 상층액에 유리된다. 실험적으로 상층액에서의 세포독성을 탐지하는 키트(ELISA)를 이용하여 쉽게 알아낼 수 있어 주로 세포독성 T 림프구, NK 세포, 단핵세포, 항체의존성 세포독성, 어떤 유해물질의 세포독성 가능성 등을 탐지하는데 이용한다.

저자들은 NK 세포를 따로 분리하지 않고 LDH를 측정하였는데 이는 NK 세포와 NK 유사세포를 포함하는 단핵세포와 림프구가 일단 LPS로 자극된 이후

세포분리 중 손실되거나 또 다른 의도하지 않은 자극으로 다시 활성화되는 것을 막아 결과에 영향을 주는 문제를 배제하기 위함이었다.<sup>5)</sup> 이는 오히려 정상인의 단핵세포에 실험과정에서 생길 수 있는 여러 가지 조건들 중 결과에 영향을 줄 수 있는 다른 약물이나 질병 등에 의한 인자들의 영향을 최소화하고 오직 실험 조건을 국한시켜 패혈증 상태에서의 propofol이 단핵세포의 세포 독성에 미치는 영향을 검토하려는 목적이 있었다.

패혈증에 빠진 중환자들은 술 후 통증이나 불안 외에 패혈증에 대한 신체 반응만으로도 높은 스트레스를 받게 된다. 이러한 환자들의 치료에 있어 중요한 과정 중의 하나는 적절한 진정이다. 패혈증의 환자치료에 있어 어느 정도의 진정은 받아들여지고 있으나 아직 어떤 약이 안전한지에 대해서 정확한 보고는 없다. 그러므로 propofol은 이러한 환자들에게서 면역기능에 영향을 주지 않는 이점이 있다고 할 수 있겠다. 본 연구에서 Salo 등이<sup>11)</sup> 제시한 임상농도 10 $\mu$ g/ml에서는 세포독성에 영향을 받지 않았으나 50 $\mu$ g/ml의 고농도에서만 세포독성이 크게 감소함을 알 수 있어 이는 임상적인 농도, 특히 진정을 위한 낮은 농도에서는 적어도 20시간까지는 단핵세포의 면역기능에 영향을 받지 않는다고 추정할 수 있었다.

#### 참 고 문 헌

- Moudgil GC: Update on anaesthesia and the immune response. *Can Anaesth Soc J* 1986; 33: S54-60.
- Stevenson GW, Hall SC, Rudnick S, Seleny FL, Stevenson HC: The effect of anesthetic agents on the human immune response. *Anesthesiology* 1990; 72: 542-52.
- Koenig A, Koenig UD, Heicappel R, Stoeckel H: Differences in lymphocyte mitogenic stimulation pattern depending on anaesthesia and operative trauma: I. Halothane-nitrous oxide anaesthesia. *Eur J Anaesthesiol* 1987; 4: 17-24.
- Debets JM, Kampmeijer R, van der Linden MP, Buurman WA, van der Linden CJ: Plasma tumor necrosis factor and mortality in critically ill septic patients. *Crit Care Med* 1989; 17: 489-94.
- Mitsuhata H, Shimizu R, Yokoyama MM: Suppressive effects of volatile anesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. *Int J Immunopharmac* 1995; 17: 529-34.
- Heine J, Leuwer M, Scheinichen D, Arseniv L, Jeager K, Piepenbrock S: Flow cytometry evaluation of the in vitro influence of four iv anesthetics on respiratory burst of neutrophils. *Br J Anaesth* 1996; 77: 387-92.
- O'Donnell NG, McSharry CP, Wilkinson PC, Axbury AJ: Comparison of the inhibitory effects of propofol, thiopentone and midazolam on neutrophil polarization in vitro in the presence or absence of human serum albumin. *Br J Anaesth* 1992; 69: 70-4.
- Jensen AG, Dahlgren C, Eintrei C: Propofol decrease random and chemotactic stimulated locomotion of human neutrophils in vitro. *Br J Anaesth* 1993; 70: 99-100.
- Galley HF, Dubbels AM, Webster NR: The effect of midazolam and propofol on interleukin-8 from human polymorphonuclear leukocytes. *Anesth Analg* 1998; 86: 1289-93.
- Delvin EG, Clarke RSJ, Mirakhor K, McNeill TA: Effect of four iv induction agents on T-lymphocyte proliferations to PHA in vitro. *Br J Anaesth* 1994; 73: 315-7.
- Salo M, Pirttikangas CO, Pulkki K: Effects of propofol emulsion and thiopentone on T helper cell type-1/type-2 balance in vitro. *Anaesthesia* 1997; 52: 341-4.
- Richardson PSR, Cooke K, Gerrish P, Rees KC, Rennie IG: Natural killer and lymphokine activated cytotoxicity following anaesthesia in patients with uveal malignant melanoma. *Melanoma Res* 1997; 7: 129-37.
- Akiyoshi T, Koba F, Arinaga S, Miyazaki S, Wada T, Tsuji H: Impaired production of interleukin-2 after surgery. *Clin Exp Immun* 1985; 59: 45-9.
- Taupin V, Jayais P, Desamps-Latscha B, Cazalaa JB, Barrier G, Bach JF, et al: Benzodiazepine anesthesia in humans modulates the interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 response of blood monocytes. *J Neuroimmun* 1991; 35: 13-9.
- Takenaka I, Ogata M, Koga K, Matsumoto T, Shigematsu A: Ketamine suppresses endotoxin-induced tumor necrosis factor alpha production in mice. *Anesthesiology* 1994; 80: 402-8.
- Ledingham ImcA, Watt I: Influence of sedation on mortality in critically ill multiple trauma victims. *Lancet* 1983; 1: 1279.
- MacCallum D: Anesthetics and the immune response. *Anesthesia* 1985; 40: 589-91.

18. Platt M, Platt S, Royston D: Lymphocyte proliferation: dichotomy of effect of related anaesthetic agents. *Br J Anaesth* 1986; 58: 132.
  19. Tubaro E, Borelli G, Croce C: Effect of morphine on resistance to infection. *J Infect Dis* 1983; 148: 656-66.
  20. Yeager MP, Colacchio TA, Yu CT, Hildebrandt L, Howell AL, Weiss J, et al: Morphine inhibits spontaneous and cytokine-enhanced natural killer cell cytotoxicity in volunteers. *Anesthesiology* 1995; 83: 500-8.
  21. Yeager MP, Procopio MA, DeLeo JA, Arruda JL, Hildebrandt L, Howell AL: Intravenous fentanyl increases natural killer cell cytotoxicity and circulating CD16+ Lymphocytes in humans. *Anesth Analg* 2002; 94: 94-9.
  22. Dundee JW, McCollum JSC, Milligan KR, Robinson FP, Halliday NJ: Thiopental and propofol as induction agents. *Anesthesiology* 1986; 65: A545.
  23. de la Cruz JP, Sedeno G, Carmona JA, de la Cuesta FS: The in vitro effects of propofol on tissular oxidative stress in the rat. *Anesth Analg* 1998; 87: 1141-6.
  24. O'Donnell GA, O'Donnell NG, McSharry CP, Asbury AJ: Comparison of the effects of anaesthetic agents on mitogen induced lymphocyte proliferation in vitro. *Br J Anaesth* 1991; 67: 658-9.
  25. Chamorro S, Francisco J, Antonio M, Jose A, Recardo G, Beatriz O: Comparative study of propofol vs. midazolam: the sedation of critically ill patients. *Crit Care Med* 1996; 24: 932-9.
  26. Helmy SAK, Wahby MAM, El-Nawaway M: The effect of anaesthesia and surgery on plasma cytokine production. *Anaesthesia* 1999; 54: 733-8.
  27. Gilliland HE, Armstrong MA, Carabine U, McMurray TJ: The choice of anesthetic maintenance technique influences the anti-inflammatory cytokine response to abdominal surgery. *Anesth Analg* 1997; 85: 1394-8.
  28. Taniguchi T, Kanakura H, Yamamoto K: Effects of posttreatment with propofol on mortality and cytokine response to endotoxin-induced shock in rats. *Crit Care Med* 2002; 30: 904-7.
  29. Jondal M, Pross H: Surface markers on human B- and T-lymphocytes. VI. Cytotoxicity against cell lines as a functional marker for lymphocyte subpopulations. *Int J Cancer* 1988; 15: 596-605.
-