

RICARDO MONEZI JULIÃO DE OLIVEIRA

Avaliação de efeitos da prática de impostação de mãos sobre os sistemas hematológico e imunológico de camundongos machos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientadora: Profa. Dra. Diana Helena de Benedetto Pozzi

**SÃO PAULO
2003**

***O Amor nunca falha, e a vida não falhará enquanto houver Amor.
Seja qual for sua crença, ou sua fé, busque primeiro o Amor.
Ele está aqui, existindo agora, neste momento.
O pior destino que um homem pode ter
é viver e morrer sozinho, sem amar e sem ser amado.
O poder da vontade não transforma o homem.
O tempo não transforma o homem.
O Amor transforma.***

Henry Drummond

DEDICATÓRIA & AGRADECIMENTOS

***Aos meus pais e melhores amigos, Aparecida e Manoel,
por forjarem no calor da virtude e do amor
este homem chamado Ricardo***

***Ao meu sobrinho Felipe Gabriel,
representante da esperança de um futuro lindo***

***Ao meu amado “Nonno” Orlando Monesi (in memoriam),
pela eterna presença, por tudo o que ele representou
e sempre representará nas nossas vidas***

Mentre camminava da solo lungo la spiaggia vedeva due impronte, una sua, l'altra di Dio.

Durante un momento di depressione e di tristezza profonda vide solo un'impronta. Pensando di essere stato lasciato solo, cominciò a disperarsi e a chiedersi perché mai Dio lo avesse abbandonato...

*L'Infinito gli rispose: **“Non ti abbandonerei mai. Quando vedi un'impronta sola vuol dire che ti sto portando in braccio”...***

AGRADECIMENTOS

- À **Deus**, que durante todo esse trabalho e por toda a minha vida tem me acompanhado e iluminado, sendo o maior dos amigos e o melhor dos terapeutas... obrigado por ter me dado a chance de viver e aprender, obrigado pelo alívio nos momentos difíceis (que não foram poucos) e principalmente, e por diversas vezes, por ter me carregado em seus braços... eu sempre tive a certeza de que as pegadas que eu via na areia eram as suas!

- Aos meus **pais, Aparecida e Manoel**, meus exemplos maiores de amor, determinação e perseverança. *EU AMO VOCÊS!!!*

- Ao meu **Tio Orlando Monesi Júnior**, meu porto seguro nos mares acadêmicos e da vida (*Discimus sed vitae, non scholae*). Sem a sua ajuda e seu apoio constantes eu não estaria onde estou hoje.

- À **Professora Doutora Diana Helena de Benedetto Pozzi**, pela orientação e por todas as oportunidades. E, com todo o carinho e respeito, à amiga Dra. Diana, que através do convívio diário me ensinou, em diversas ocasiões e de diversas formas, o significado das palavras respeito e amizade, e da expressão “*em paz*”.

- À minha **avó Catarina** e minha **tia Vera** por todas as suas orações e pela sua fé inesgotável, neste neto e sobrinho, e sobretudo em Deus.

- À minha **irmã “Tam”** e meu **cunhado Marco** por terem me dado um motivo a mais para viver e ser feliz: meu **sobrinho Felipe**. Sua foto, perto de minha mesa no laboratório, sempre foi uma promessa do futuro; e, também, pela alegria de saber que, ao final deste trabalho, eu novamente vou ser tio!

- À **Claudia Fernandes Gerald**: minha alma gêmea, meu complemento, minha tradução mais completa, linda e livre da palavra Amor. Obrigado por estar em minha vida e por toda a coragem que você me deu durante esta jornada, que também dedico a você...

- À minha querida amiga e companheira de trabalho **Regina K. F. Guillaume**, pelo apoio, amizade e força.

- À minha querida amiga **Dra. Silvia Ricci**, uma figura extraordinária e sempre presente. Não tenho palavras para agradecer as suas tantas palavras de apoio e amizade.

- À minha querida amiga e **Mestra Luciana Brito Kaufmann**, que apesar da distância sempre dava um “jeitinho” de estar por aqui. Obrigado por toda a sua torcida e orações... e saiba que você fez e faz muita falta no nosso dia-a-dia.

- À querida amiga e sempre minha mestra, **Dra. Yur Maria Tedesco**, pela amizade, apoio e pela primeira oportunidade de conhecer a profissão de docente universitário.

- Ao meu grande amigo **Fabio Perillo Samori**, um exemplo de determinação e caráter. Obrigado por todas as conversas e conselhos... e que você perdoe a ausência deste amigo que tem orgulho de te chamar de irmão!

- Aos meus queridos amigos da Fisiopatologia Experimental, **Gallo** e os pós-graduandos **David Kasahara**, **Giovani “Khorvo” Fávero** e **Humberto Delle**, pelo apoio, amizade sincera, almoços no COSEAS e churrascadas científicas.

- À **Dra Elza Maria Laporte** pela amizade, auxílio e apoio.

- À **Professora Dra. Primavera Borelli**, do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, e ao pós-graduando **Ricardo Ambrosio Fock**, pela colaboração e fornecimento das células-alvo DAUDI.

- À amiga e **Professora Dra. Élia G Caldini**, pela amizade, apoio, incentivo e simpatia.

- Ao **Professor Dr. Roger Chammas**, pelo incentivo, pela amizade e por todo trabalho que vem sendo desenvolvido na Fisiopatologia Experimental.

- Aos funcionários da secretária da Fisiopatologia experimental: **Diva, Sônia, Tânia e José Roberto**, por toda a amizade e atenção.

- Aos meus queridos amigos e Mestres **Gilberto Bonfatti Júnior, Virginio e Elisa Maria Rochetto**. Pela ajuda que me deram em momentos delicados, pelas palavras de fé e apoio... por acreditarem!!!

- À bióloga e grande amiga **Cyntia Santos**, por todo o auxílio técnico, pela amizade e por esse sorriso lindo e reconfortador... obrigado por tudo, minha caríssima!!!

- Aos meus queridos amigos e companheiros de trabalho **Joel Marques Bispo e Vicente Lopes da Silva**, os “braços direito e esquerdo” do Laboratório de Linfoproliferações Experimentais... este trabalho não existiria sem a colaboração de vocês! Muito obrigado...

- Ao amigo e biólogo **Claudinei Brandine**, pela amizade e pelos primeiros ensinamentos técnicos quando cheguei ao LIM 31.

- À minha amiga **Paula Cristina de Oliveira**, oficial administrativa do LIM-31, que com sua simpatia torna os nossos dias mais agradáveis.

-Ao Médico Veterinário **Pedro A. Ferreira Neto**, pela manutenção do biotério, pela amizade e pelas nossas conversas de fim de tarde.

- Ao **Professor Doutor João Palermo Neto**, (FMVZ-USP) cujo curso de oratória vem me ajudando muito desde o exame de qualificação.

- À amiga **Silvia Ortiz** e a todos os **funcionários do Centro de Bioterismo** da FMUSP, pelo apoio técnico, amizade e simpatia.

- Aos **funcionários do Laboratório de Coagulação do Departamento de Doenças Trombo-hemorrágicas da Fundação Pró-sangue**, em especial à **farmacêutica Tânia Rúbia Flores da Rocha**, pelo auxílio inicial na contagem das plaquetas.

- Às amigas do LIM 56, **Noemia Mie Orie** e **Rosângela Maria Araújo**, pela amizade e colaboração.

- Ao amigo **Roberto Chagas dos Santos**, pela amizade e pela simpatia diária.

-Às amigas da CEAP-LIM, **Maria Laura Lacava Lordello** e **Vânia Lúcia Ribeiro da Mata**, pelo apoio e amizade desde os tempos da realização do meu aprimoramento nesta casa.

- À minha amiga **Meire de Carvalho Antunes**, analista de comunicação social da FMUSP, pelo apoio, carinho e amizade. Você nem imagina o quanto me ajudou, minha caríssima... muito obrigado!

- À todos os **funcionários da Biblioteca da Faculdade de Medicina** da Universidade de São Paulo, em especial à sra. Maria Aparecida de Lourdes Castro Santos, pela simpatia, disponibilidade e apoio.

- Ao amigo **Ricardo Alexandre Lazaro** e a todos os outros **funcionários do Departamento de Informática Médica da FMUSP**, pela amizade e pelo socorro muitas vezes prestados.

- Ao amigo **Ricardo Luiz Longarço**, da Central de Cópias da FMUSP, pela sua amizade.

- Aos amigos **Geddy Lee, Alex Lifeson e Neil Peart**, pelas suas palavras e exemplos de vida.

- Ao meu grande amigo **José Carlos Paghodin**, pela amizade e pela sua música inspiradora.

- Aos amigos que mais estiveram presentes nesta jornada, me apoiando, incentivando e sentindo (reclamando...) a minha falta (desculpem-me !!!): **Alessandra Tavares, Alexandre Sobral, Andréia Aparecida, Ana Paula Jubran, Ana Zen, Bianca Burini, Carina & Giovana Carletti, Cristiane Tabarelli, Daniele Marconcini, Eduardo Barcelos, Fábio Nogueira, Fabio Veneri, Fabiano Ventura, Flávio Borges, Igor M., Izabel Cristina Rodrigues, Juliana Hirata, Lag G. M., Leandro Goya, Luciane Perosin, Marcos David Muhlpointer, Manuela Lacerda, Marcelo Cardagi, Marcus Chinelato, Mauro Fonseca, Nicolau Jorge Neto, Rafael Provatti, Regiane Mathias, Rita de Cássia Machado, Rogério Gutembergue, Renata, Alexandre & César Geraldés, Rosana Bignami, Rogério Sassá, Rodrigo Led Santim e Vanessa Ferraz. Vocês são o máximo!!!**

- À todos meus **amigos invisíveis**, que me acompanharam durante todo este caminho, me ajudando e apoiando... *“é com o coração que se vê corretamente – o essencial é invisível aos olhos”* (Saint-Exupéry).

- À todos **aqueles que cruzaram a estrada da minha vida, deixando suas marcas e pegadas**... os nomes de vocês talvez não estejam citados aqui, mas com certeza estão gravados no meu coração.

- À todos **aqueles que partiram e deixaram saudades**. Acredito que o reencontro é apenas uma questão de tempo...

- À **CAPES**, pela bolsa de estudo e oportunidade de viver integralmente o dia-a-dia de um laboratório de pesquisas.

*....e, mais uma vez (e sempre !), a **Deus**,
por ter me dado a possibilidade de encontrar pessoas tão especiais !!!*

SUMÁRIO

Lista de símbolos	de	abreviaturas	Lista de
Resumo	Summary	1	INTRODUÇÃO.....
.....			
Resumo			
Summary			
1	INTRODUÇÃO.....		
2	OBJETIVOS.....		
3	REVISÃO DA LITERATURA.....		
3.1	Psiconeuroimunoendocrinologia.....		
3.2	Impostação de mãos e energia sutil.....		
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....		
4.1	Metodologia.....		
4.1.1	Leucograma específico.....		
4.1.2	Contagem de plaquetas.....		
4.1.3	Avaliação da resposta imunológica.....		
4.2	Análise estatística.....		
5	RESULTADOS.....		
6	DISCUSSÃO.....		
7	CONCLUSÕES.....		
8	ANEXOS.....		
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ADCC	Citotoxicidade dependente de anticorpo e mediada por células
AR	Receptores para andrógenos
CRF	Fator liberador de Corticotrofina
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CFU-GM	Unidade formadora de colônia – granulócito e monócito
DAUDI	Linhagem celular NK-resistente
ER	Receptores para estrógeno
ERITRO	Eritrócitos
FCS	Soro fetal bovino
FSH	Hormônio folículo estimulante
GH	Hormônio do crescimento
GRAN	Granulócitos
HPA	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
IFN	Interferon
IFN γ	Interferon gama
Ig	Imunoglobulina
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
LAK	Células matadoras ativadas por linfocinas
LH	Hormônio luteinizante
LIM	Laboratório de investigação médica
NK	Células <i>Natural Killer</i>
PLT	Plaquetas

PR	Receptores para progesterona
SIDA	Síndrome de imunodeficiência adquirida
T3 e T4	Hormônios tireoideanos
TCR	Receptor de células T
TGF	Fator de crescimento tumoral
TNF	Fator de necrose tumoral
TSH	Hormônio tireoideo-estimulante
YAC-1	Linhagem celular de linfossarcoma murino

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Moléculas efetoras neuroquímicas, neuro-hormonais e neuroendócrinas que interagem com diferentes células do sistema imunológico.....	11
Figura 2	Tratamento com luvas sobre o grupo de animais dentro da gaiola de criação, sem contato físico direto.....	30
Figura 3	Tratamento pela impostação de mãos sobre o grupo de animais dentro da gaiola de criação, sem contato físico direto.....	31
Figura 4	Leucograma específico realizado nos grupos Controle, Controle-Luva (Luva) e Impostação, através de coloração de Leishman – média das contagens específicas para neutrófilos, linfócitos e monócitos, de um total de 200 células contadas.....	40
Figura 5	Contagem de plaquetas, realizadas nos grupos Controle, Controle-Luva (Luva) e Impostação, através do método direto.....	41
Figura 6	Atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade <i>Natural killer</i> contra células-alvo YAC-1 e <i>Lymphokine activated killer</i> contra células-alvo DAUDI.....	42
Figura 7	Atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade NK contra células-alvo YAC-1.....	43
Figura 8	Atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade LAK contra células-alvo DAUDI.....	43

LISTA DE SÍMBOLOS

CO ₂	gás carbônico
fl	fentolitros
g/dl	gramas por decilitro
g	gramas
g	gravidade
°C	graus Celsius
<	menor que
>	maior que
M/μl	milhões por microlitro
μl	microlitros
μCi	micro Currie
μg/dl	micrograma por decilitro
Na ₂ ⁵¹ CrO ₄	cromato de sódio
pg	picograma
%	porcentagem

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados da Leucometria específica pela coloração de Leishman dos camundongos do grupo Controle, onde foram contadas duzentas (200) células por lâmina de cada animal.....	56
Tabela 2	Resultados da Leucometria específica pela coloração de Leishman dos camundongos do grupo Controle-Luva, onde foram contadas duzentas (200) células por lâmina de cada animal.....	57
Tabela 3	Resultados da Leucometria específica pela coloração de Leishman dos camundongos do grupo Impostação, onde foram contadas duzentas (200) células por lâmina de cada animal.....	58
Tabela 4	Resultados da contagem de plaquetas expressos em mil por milímetro cúbico (1000/mm ³) dos camundongos machos dos grupos Controle, Controle-Luva e Impostação.....	59

RESUMO

OLIVEIRA, R. M. J.. **Avaliação de efeitos da prática de impostação de mãos sobre os sistemas hematológico e imunológico de camundongos machos.** São Paulo, 2003. 75p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

Estudamos a impostação de mãos sobre camundongos, avaliando parâmetros hematológicos e imunológicos. Nossos resultados demonstraram nos animais que receberam a impostação de mãos uma diminuição significativa do número de plaquetas, elevação do número de monócitos na leucometria específica, elevação da atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade *NK* e *LAK*. Os grupos controle e placebo não mostraram qualquer alteração. Os resultados encontrados nos levam a concluir que há uma alteração fisiológica decorrente à impostação de mãos e que há que se estudar por que ela ocorre.

SUMMARY

OLIVEIRA, R. M. J.. Evaluation of the hands imposition techniques over the hematological and immunological systems of male mice São Paulo, 2003. 75p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

It has been investigated whether the hands imposition on male mice, produces physiological effects through hematological and immunological parameters. The results demonstrated that animals receiving hands imposition have presented a reduction of the platelet count, increase in monocytes count in specific white blood cells counts, increase in cytotoxic activity of non-adherent cell with NK and LAK activities. Control and placebo groups presented no response. The results found lead us to the conclusion that there is a physiological alteration due to the hands imposition and it should be investigated how it does occur.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Entre as práticas da medicina complementar empregadas para o tratamento de diversas doenças está a impostação de mãos.

Tal modalidade terapêutica é um potencial humano natural conhecido desde épocas anteriores a Cristo, sendo atualmente utilizada como terapêutica complementar em diversas situações clínicas, especialmente na recuperação de pacientes com doenças crônicas, como no tratamento da síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) (OLSON, 1997) e no tratamento de diversas formas de tumores (FERNANDEZ, 1998; GIASON, 1998; GOTAY, 1999).

O funcionamento deficitário do sistema imunológico é uma das causas que pode levar ao aparecimento e ao desenvolvimento de tumores. Os tumores crescem de maneira descontrolada, invadem tecidos normais e, muitas vezes, crescem em tecidos distantes do sítio de origem.

De modo geral, os tumores são originados de apenas uma ou algumas células normais que sofreram transformação maligna. O processo de crescimento anormal dos tumores malignos é o reflexo de complexas anormalidades da fisiologia resultantes da expressão de genes virais e/ou de expressão desregulada de genes normais. O aumento da frequência das mutações nestas células cancerosas pode estar relacionado ao fato de que os agentes carcinogênicos que promovem o desenvolvimento dos tumores,

tais como a radiação ionizante e os agentes químicos, não são seletivos e podem lesar o DNA em qualquer parte do genoma. (HERBERMAN, 2002).

O tratamento clínico convencional dos tumores envolve esquemas de administração de quimioterapia e radioterapia. Tais tratamentos podem levar tanto a cura do câncer quanto a respostas parciais e paliativas, sendo que em diversas ocasiões pode haver até uma ausência de respostas ao tratamento empregado (DE VITA, 1985).

Tem sido verificado que o tratamento médico convencional para o câncer, aplicado conjuntamente com práticas da medicina complementar, como a imposição de mãos, tem levado a uma melhor resposta dos pacientes ao tratamento (FERNANDEZ, 1998; GIASON, 1998).

Todavia o mecanismo fisiológico pelo qual haveria essa melhora não está elucidado, sendo aventada a hipótese de uma melhora no estado imunológico, especialmente na resposta antitumoral, através da ativação de células com atividade *Natural Killer* (NK) e *Lymphokine Activated Killer* (LAK).

Há relatos sugestivos na literatura consultada de que a imposição de mãos provocaria efeitos perceptíveis sobre o sistema imunológico, que pode ser exemplificado pela elevação na imunidade humoral (OLSON, 1997), redução no número de linfócitos T-supressores (QUINN, 1993) e até a elevação dos efeitos das funções imunológicas antitumorais (LEI, 1991). Também encontramos relatos de alterações hormonais que podem estar diretamente relacionados à função imunológica (LAFRENIERE, 1999).

O modo pelo qual a imposição de mãos agiria sobre os organismos não está esclarecido, sendo que há hipóteses que atribuem os resultados fisiológicos secundários a um tratamento por esta técnica à ação das chamadas energias sutis, que seriam um conjunto de energias que ainda não foram exatamente esclarecidas pela ciência (OSCHMAN, 2000).

Há também a hipótese de que seus efeitos sejam decorrentes de interações entre os campos bioeletromagnéticos próprios de cada ser vivo, uma vez que estes possuem certas potencialidades e polaridades elétricas (TILLER, 1999; OSCHMAN, 2000; GREENE, 2001).

Por outro lado, há autores que sugerem que os resultados obtidos com tratamentos pelas técnicas de imposição de mãos sejam decorrentes de efeito placebo, relatado como uma resposta condicionada do organismo, que pode ser dependente de crença, envolvendo interações entre a mente, as emoções, e diferentes sistemas fisiológicos, o que, por si só, pode constituir-se em um acesso para mecanismos internos, naturais, que podem tanto levar ao desencadeamento de doenças quanto a sua própria cura (WOLF, 1950; GLIEDMAN, 1956; HERRNSTEIN, 1962; ADER, 1975; LEVINE, 1978; HARRINGTON, 1997; STEFANO, 2001).

Com o objetivo de verificar os possíveis efeitos biológicos da imposição de mãos, isolando o efeito placebo, encontramos na literatura raríssimos e discutíveis trabalhos que se utilizaram de ratos como modelos experimentais, e que encontraram resultados sugestivos (GRAD, 1961; LEI, 1991; ZHANG, 1998).

Frente à escassez de trabalhos na literatura que expliquem e comprovem de maneira científica os efeitos fisiológicos da impostação de mãos, sobretudo no sistema imunológico, resolveu-se pela realização deste trabalho e, para tanto, utilizou-se de um modelo experimental não-humano, camundongo, onde foram estudadas as respostas hematológicas e imunológicas a um tratamento por esta técnica complementar.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

- Verificar se a impositação de mãos sobre o corpo de camundongos, sem contato físico direto, produz efeitos fisiológicos detectados por técnicas laboratoriais, como leucograma específico, contagem de plaquetas, ensaio de citotoxicidade de células não-aderentes com atividade NK e LAK.

REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

Psiconeuroimunoendocrinologia

A Psiconeuroimunoendocrinologia é a área da ciência que estuda a interação entre os sistemas nervoso, imunológico e endócrino e o fator psicológico (KROPIUNIGG, 1993; REICHLIN, 1993; DANTZER, 1997; ADER, 2000, 1998; 1987a, 1987b; KOENING, 2000; MASEK, 2000).

Denominada há, aproximadamente, 20 anos a Psiconeuroimunoendocrinologia originou-se da tentativa de explicação do mecanismo de funcionamento do chamado “Efeito Placebo” (HARRINGTON, 1997). Segundo LEVINE (1978), “a resposta do organismo ao placebo poderia envolver componentes de diversas naturezas, tanto emocional, quanto física ou simbólica, sendo que todos colaboram para a ativação de uma resposta neurobiológica”.

A Psiconeuroimunoendocrinologia, como área de estudo, foi baseada em trabalhos de diversos pesquisadores que trouxeram evidências sugestivas de que o “Efeito Placebo” poderia ser explicado como uma resposta condicionada do organismo, constituindo-se em um fenômeno que envolve interações entre a mente, as emoções, e diferentes sistemas, principalmente o endócrino e o imunológico, o que poderia constituir um acesso para mecanismos internos, naturais e que poderiam desencadear

tanto processos patológicos quanto de cura (ADER, 1975, 1988; BYERLY, 1976; LEVINE, 1978; STEFANO, 2001).

Esta comunicação entre os vários sistemas parece ser regulada principalmente pela excreção do fator liberador de corticotrofina (CRF), cuja secreção pode ser estimulada por pensamentos, emoções ou por ativações imunológicas que influem no eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) e nos seus produtos, fenômeno já evidenciado por SELYE no início do século passado (BLACK, 1995).

Dentre os neuro-hormônios envolvidos temos o fator liberador de corticotrofina (CRF), hormônio folículo estimulante (FSH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), hormônio do crescimento (GH), hormônio luteinizante (LH), hormônio tireóideo-estimulante (TSH), a prolactina e a somatostatina. Entre as moléculas efetoras neuroendócrinas temos a epinefrina, os corticosteróides, os hormônios tireoideanos (T3 e T4) e os hormônios esteróides sexuais. Dentre os neurotransmissores neuropeptídeos podemos citar a serotonina, a norepinefrina, a acetilcolina, a dopamina, o ácido gama amino butírico, os opiáceos, a arginina vasopressina, a substância P, o peptídeo intestinal vasoativo, a colecistocinina, a ocitocina e a melatonina. Quanto às citocinas, temos as interleucinas 1, 2, 3, 6, além dos fatores de necrose e crescimento tumoral – TNF α e TGF β , respectivamente, e o interferon γ (BLACK, 1995; BUCKINGHAM, 1996; HENRY, 1997; McEWEN, 1997). (Figura 1)

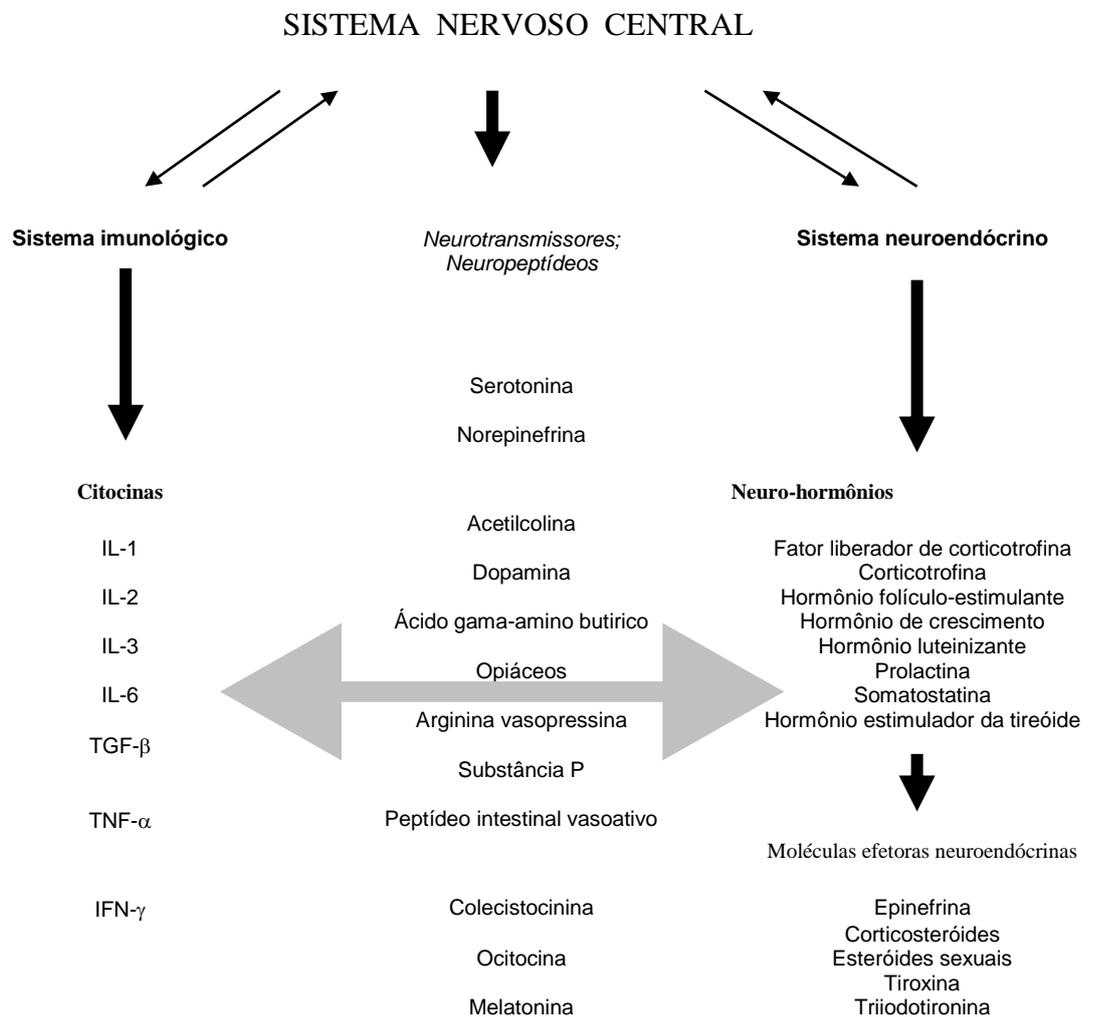


Figura 1: Moléculas efetoras neuroquímicas, neuro-hormonais e neuroendócrinas que sabidamente interagem com diferentes células do sistema imunológico. As citocinas do sistema imunológico, por sua vez, interagem com o sistema nervoso e com o endócrino. Muitas outras citocinas estão sob análise (Black, P. H. Psychoneuroimmunology: Brain and Immunity. Scientific American, Science & Medicine. November/December 1995).

Como exemplo de ativação emocional do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA), podemos citar o estresse, definido por SELYE como um desvio da homeostase numa condição normal de repouso. Segundo este pesquisador, qualquer mudança que afeta a vida de um organismo é um agente estressor, sendo que estes podem variar amplamente quanto à sua

natureza, abrangendo desde componentes psicossociais e comportamentais, como frustração, ansiedade e sobrecarga, assim como componentes de origem bioecológica e física como a poluição, a temperatura e a nutrição, sendo que entre estes agentes não há evidência indicando uma uniformidade ou mesmo um padrão no desencadeamento de reações fisiológicas ao estresse, que por sua vez envolvem o cérebro e todas as funções corporais (SELYE, 1975).

A literatura refere principalmente as complexas mudanças neurológicas e neuroquímicas decorrentes da ação de agentes estressores, afetando, desse modo, os sentidos da percepção, o equilíbrio hormonal, a função respiratória, a pele, o trato urogenital e os sistemas cardiovascular e digestivo (STRATAKIS, 1995; BJORNTORP, 1997; ROSENMAN, 1997; BIONDI, 1999).

Tais alterações manifestam-se através de vários sinais, como, por exemplo, variação de frequência respiratória e cardíaca, pressão arterial, sudorese e eficácia do processo digestivo. Essas respostas fisiológicas são naturais e vitais, porém, em determinadas situações, se ocorrerem de maneira continuada, podem trazer efeitos deletérios para a saúde. Esta situação de estresse crônico que leva ao aparecimento e desenvolvimento de doenças tem sido chamada mais recentemente de Distresse. (DANTZER, 1997; ROOZENDAAL, 1997).

Quando há um agente estressor, físico ou emocional, atuando sobre o organismo, há a ativação da amígdala, uma estrutura encefálica que faz parte do sistema límbico, uma área cerebral responsável, entre outras coisas, pela

elaboração das emoções e pela tradução destas em sinais bioquímicos (ROOZENDAAL, 1997; BIONDI, 1999).

Nessa situação, a resposta neuronal da amígdala estimula a resposta hormonal do hipotálamo induzindo a liberação do CRF, que por sua vez estimula a hipófise a liberar outro hormônio, o ACTH, na corrente sangüínea, que irá estimular as glândulas supra-renais (BLACK, 1995; STRATAKIS, 1995).

As glândulas supra-renais compreendem duas regiões distintas: uma parte interna, ou medula, que secreta Adrenalina (Epinefrina) e Noradrenalina (Norepinefrina) e uma camada externa ou córtex, que secreta mineralo-corticóides (aldosterona) e glicocorticóides (cortisol). Simultaneamente, o hipotálamo atua diretamente sobre o sistema nervoso autônomo para que ele desencadeie, imediatamente, a reação ao estresse. O corpo é então preparado para a reação de luta ou fuga através de uma via dupla: uma resposta nervosa de curta duração e uma resposta endócrina (hormonal), de maior duração (FOLKOW, 1997).

Como exemplo de atuação de um destes produtos da interação neuroimunoendócrina podemos citar o cortisol, um dos principais hormônios do estresse que faz parte da família dos glicocorticóides, grupo de hormônios esteróides secretados pelas glândulas supra-renais a partir da estimulação bioquímica pelo hormônio ACTH (BIONDI, 1999; CRUSE, 1992; 1993).

O cortisol apresenta numerosas e importantes funções sistêmicas e indispensáveis à vida, especialmente quando o organismo está submetido a uma situação de estresse. Entre suas inúmeras funções, o cortisol libera a glicose dos depósitos de glicogênio elevando desse modo o nível de glicemia, favorece a degradação das proteínas em aminoácidos e mobiliza as gorduras dos depósitos, tornando-as disponíveis para produzir energia em casos de emergência (DRACOTT, 1979; IRWIN, 1999).

Além disso, o cortisol atua sobre os receptores para glicocorticóides que são expressos, entre outras, por diversas células do sistema imunológico, como linfócitos T e B, células *Natural Killer* (NK) e neutrófilos, podendo induzir diferentes efeitos sobre essas populações celulares, que vão desde a apoptose à supressão da proliferação e das atividades citolíticas dos linfócitos, até a proliferação de neutrófilos (CRABTREE, 1978; MILLER, 1994; MCEWEN, 1997).

Um dos importantes processos fisiológicos regulados pelas mudanças neurais e endócrinas é a modulação da função imunológica. Estudos indicam que diferentes agentes estressores podem influenciar tanto a resposta imunológica humoral como aquela mediada por células (MOYNIHAN, 1994).

Esta influência sob o sistema imunológico pode ocorrer através da ausência ou mudança nos níveis de glicocorticóides com diminuição da atividade das células NK na resposta citotóxica (SAUER, 1995; MCCAN, 2000; REYNAERT, 2000).

Desde 1970 as células NK têm sido reconhecidas como um subgrupo funcionalmente distinto de efetores citotóxicos, encontrados no sangue e nos tecidos linfóides. Foram identificadas pela sua habilidade em lisar células tumorais e também algumas células normais infectadas por vírus (BORDIGNON, 1999).

Constituem-se em uma população linfocitária distinta, encontradas no sangue e nos tecidos linfóides, especialmente no baço, com morfologia semelhante à de grandes linfócitos granulares, que pode ser associada a sua função citotóxica. (HERBERMAN, 2002).

Não apresentam especificidade antigênica ou restrição pelo MHC. Expressam vários receptores de superfície para IL-2, IL-12 e TNF alfa, sendo que desta maneira, através de efeitos autócrinos, podem contribuir com suas funções citotóxicas.

As células NK são caracterizadas pela expressão do CD 56, que também é expresso por uma pequena subpopulação de células T, CD 16 (Fc γ RIII), relativamente específico para NK e pela não-expressão de moléculas CD 3. Outros marcadores de superfície celular das NK são receptores inibitórios, como o CD 94 e NKG2, que desempenham papel no reconhecimento de moléculas próprias do MHC (TRINCHIERI, 1989).

Células com este fenótipo correspondem a mais de 90% da população das células NK em indivíduos normais (HU, 1995). Nas células-alvo revestidas de anticorpo, a lise mediada pelas células NK representa um exemplo de citotoxicidade dependente de anticorpo e mediada por célula (CCDA). (VAN de GRIEND, 1987).

As células NK constituem-se na maior fonte de atividade citotóxica mediada por células que não são ativadas pelo reconhecimento de antígenos específicos de células estranhas. São parte do mecanismo inato de defesa e são a linha de frente nos mecanismos de defesa do hospedeiro, pois não requerem adaptação ou imunização para iniciarem suas funções (WHITESIDE, 1990).

Entre as evidências que suportam a hipótese de que as células NK participam na vigilância imunológica, podemos citar a habilidade rápida e natural de ativação para provocar lise de vários tumores (HERBERMAN, 1986); a capacidade de eliminar células tumorais metastáticas e, portanto, evitar a disseminação tumoral (SCHANTZ, 1987); e, conforme relatos encontrados na literatura, uma incidência aumentada de tumores, principalmente linfomas, em ratos com depressão da atividade das células NK e, também, em pacientes transplantados imunossuprimidos (PENN, 1982).

Também é admitido que as células NK tenham a capacidade de lisar células infectadas por vírus sem prévia estimulação antigênica. No início de uma infecção viral, as células NK são expandidas e ativadas por citocinas, como a IL-2, IL-5, o IFN tipo I e a IL-12. (VERSTEEG, 1992). Na infecção pelo HIV a atividade das células NK tem sido relacionada com o controle da replicação viral, impedindo a evolução da fase assintomática para a doença propriamente dita (BOURIN, 1993).

A capacidade tumoricida das células NK é aumentada por diversas citocinas, entre elas a IL-2.

A IL-2, inicialmente conhecida como fator promotor de crescimento e ativação de células T (GAFFEN, 2001), é uma linfocina com peso molecular de aproximadamente 15000 Daltons que é produzida pelos linfócitos T auxiliares (ELLERY, 2002).

O gene codificador da IL-2 foi isolado a partir da descoberta de que as células leucêmicas de Jurkat produziam altas concentrações de IL-2 análoga à humana (GILLIS; WATSON, 1980). A recente disponibilidade de IL-2 através de derivados recombinantes, resultantes da inserção do gene codificador da IL-2 humana na *Escherichia coli*, proporcionou aos pesquisadores a disponibilidade de grandes quantidades da IL-2, altamente purificadas, para seu uso em estudos *in vitro* e *in vivo* (ROSENBERG, 1984).

In vitro, a IL-2 tem capacidade imunorreguladora, induzindo a proliferação de subpopulações de células T que possuem receptores de para a IL-2 (ROBB, 1981). A administração *in vivo* da IL-2 promove a indução de células T auxiliares específicas e células citotóxicas, produção de auto-anticorpos, e aumento da atividade antitumoral de células transferidas dependentes de IL-2 (CHEEVER, 1982).

Além disso, a IL-2 induz a secreção de outras citocinas como o IFN γ e o TNF e aumenta a função citolítica de células NK e linfócitos T (GAFFEN, 2001).

Quando os linfócitos são colocados em cultura contendo IL-2, essas células desenvolvem níveis elevados de atividade citotóxica contra uma variedade de células cancerosas, sendo então denominadas de células killer ativadas por linfocinas (LAK) (ETTINGHAUSEN, 1985; HAWKINS, 1993).

Em contraste com as células T citotóxicas, a citotoxicidade mediada por LAK não é específica, não se restringe pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e não é dependente de receptores α ou β das células T (ROSENBERG, 1985).

Sua atividade é operacionalmente definida como a ação de lisar *in vitro* linhagens tumorais NK-resistentes, como as DAUDI (ORTALDO, 1986).

A maioria das células LAK tem o fenótipo de células NK ativadas (CD 56+, CD 16+, CD 3-), embora células que expressam somente CD56, bem como células que co-expresssem marcadores para CD3 e NK, apresentam atividade LAK. Desse modo, a atividade LAK parece ser mediada por subpopulações de linfócitos (SCHMIDT-WOLF, 1997).

As células LAK demonstram capacidade citolítica aumentada e uma especificidade de alvos muito ampla, destruindo uma grande variedade de células tumorais, inclusive células resistentes à terapêutica e, também, células infectadas por vírus.

Estudos *in vitro* revelaram que células NK são as células primariamente responsáveis pela citotoxicidade das células LAK e parece ser interessante obter população purificada de células NK ativadas, para permitir estudos experimentais e clínicos. (SCHWARZ, 1989).

Impostação de mãos e energia sutil

A imposição de mãos é um potencial humano natural que tem sido utilizado desde épocas anteriores a Cristo. Entre as diversas técnicas que trabalham com a imposição de mãos podemos citar o Toque Terapêutico (KRIEGER, 1976), o Jin Shin Jyutsu (BURMEISTER, 1997), o Reiki (WARDELL, 2001), o Qi Gong e o Johrei (OSCHMAN, 2000).

O Toque Terapêutico (TT), ou Método Krieger-Kunz, foi descrito no início da década de 70 por Dolores Krieger, da Divisão de Enfermagem da New York University. De acordo com seus autores, é um método no qual as mãos são usadas para dirigir energias humanas. Seus praticantes alegam que os "campos energéticos" do paciente podem ser detectados e intencionalmente manipulados pelo terapeuta.

De acordo com KRIEGER (1976), *o TT não possui qualquer base religiosa e independe da fé ou crença daquele que o recebe ou do praticante para ser efetivo. Sua aplicação requer, entretanto, a intencionalidade consciente do praticante com o intuito de repadronizar o campo energético humano.*

O Jin Shin Jyutsu, descrito por Jiro Murai, no Japão, envolve o toque em pontos determinados do corpo do paciente, chamados "pontos de segurança de energia". Os praticantes acreditam que suas mãos funcionam como "baterias energéticas", que podem "carregar" determinadas áreas e

“descarregar” outras, conforme a necessidade da pessoa, visando restabelecer e harmonizar os padrões circulatórios da energia (BURMEISTER, 1997).

O Qi Gong é considerada uma técnica chinesa de imposição de mãos milenar. “Qi” significa energia e “Gong” é a união das condições fisiológicas, mentais e emocionais do praticante. É um método que visa mobilizar, harmonizar e aplicar o "fluxo energético" no corpo. Os praticantes acreditam que, ao realizar os exercícios de Qi Gong, os pontos de entrada de energia estarão abertos absorvendo a energia da natureza (ZHANG, 1998).

O Johrei é uma prática de imposição de mãos, descrita por Mokiti Okada, no Japão, vinculada à igreja messiânica. Seus praticantes acreditam que através da imposição de mãos sobre o corpo de uma pessoa energias invisíveis podem provocar alterações tanto no físico quanto no emocional e espiritual (OSCHMAN, 2000).

O Reiki é uma técnica de imposição de mãos que foi concebida no Japão, no final do século XIX; seus praticantes acreditam na existência de uma energia sutil que pode ser canalizada e transmitida a outras pessoas através de pontos específicos intitulados de *Chakras* (BULLOCK, 1997; WARDELL, 2001).

Há relatos de aplicações destas técnicas em inúmeras áreas da medicina como recurso complementar às terapias convencionais (KELNER & WELLMAN, 1997; WIRTH & BARRET, 1994) demonstrando resultados promissores, sobretudo na recuperação de pacientes crônicos e

imunodeprimidos, como, por exemplo, pacientes oncológicos, tanto pediátricos quanto adultos (OLSON & HANSON, 1997; FERNANDEZ, 1998), pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida (SIDA) (TOUPS, 1999) e, também, no alívio de sintomas como dispnéia, edemas e ansiedade em pacientes terminais (BULLOCK, 1997), como adjuvante na terapia com opióides no manejo da dor e em pacientes obstétricas durante a gravidez (PETRY, 2000^{A, B, C}; RANZINI, 2001; SATYA, 2001).

Encontramos na literatura alguns trabalhos que investigaram, em humanos, as alterações fisiológicas decorrentes de tratamentos por diferentes práticas de imposição de mãos que sugerem, entre outros efeitos, uma melhora do sistema imunológico.

QUINN e STRELKAUSKAS (1993) conduziram um estudo piloto com participantes que estavam em estado de luto familiar recente onde, após a aplicação do Toque Terapêutico, essas pessoas apresentaram redução no número de linfócitos T-supressores, implicando na ativação e elevação do sistema imunológico. Em 1997, OLSON corrobora os resultados deste trabalho demonstrando também elevação na imunidade humoral de pacientes tratados com a mesma técnica (OLSON, 1997).

WINSTEAD-FRY e KIJEK (1999) revisaram 29 estudos da eficácia dessa mesma modalidade terapêutica complementar sobre a redução da dor, ansiedade e estresse, e encontraram 19 estudos que demonstraram benefícios para seus clientes.

LAFRENIERE (1999) examinou os efeitos fisiológicos do Toque Terapêutico através da mensuração dos níveis de cortisol, dopamina e óxido

nítrico, bem como distúrbios de humor e ansiedade. Após três sessões semanais consecutivas foram encontradas alterações positivas e significativas nos níveis de óxido nítrico e cortisol, além de redução do estresse aferido por teste psicológico no grupo experimental.

WARDELL (2001) avaliou o efeito de um tratamento Reiki, em pessoas saudáveis, sobre marcadores biológicos relacionados ao estresse, como mensuração dos níveis de Imunoglobulina A (IgA) e cortisol, pressão sanguínea, tensão muscular, temperatura e condutância da pele, além da avaliação do estado de ansiedade através da aplicação de testes psicológicos. Os dados foram coletados antes, durante e imediatamente após as sessões. Os resultados finais foram baseados em comparações entre o antes e o depois das sessões de Reiki demonstrando uma elevação dos níveis de IgA, queda na pressão sanguínea sistólica e uma ansiedade significativamente reduzida. Não foram detectadas diferenças relevantes quanto aos níveis de cortisol, tensão muscular, temperatura e condutância da pele.

Apesar dos achados sugestivos, os autores destes trabalhos não discutiram se as mudanças bioquímicas e fisiológicas encontradas podem ser realmente atribuídas aos tratamentos aplicados ou a um efeito placebo a que os pacientes de seus estudos possivelmente estariam submetidos, uma vez que poderiam estar sob influência de fatores condicionantes de natureza psicológica e emocional, como fé, crença e esperança no tratamento (KIRSCH, 1985, 1990; HARRINGTON, 1997; WILKINSON, 2002).

Com o objetivo de verificar os possíveis efeitos biológicos de tratamentos por imposição de mãos, isolando o efeito placebo a que os seres humanos podem estar submetidos, encontramos na literatura raríssimos e discutíveis trabalhos que se utilizaram de animais como modelos experimentais (GRAD, 1961; LEI, 1991).

GRAD e colaboradores (1961) estudaram o desenvolvimento do bócio tireoideano induzido em ratos tratados por imposição de mãos. Para produzir a doença nos animais, o pesquisador os submeteu a dietas especiais, que favoreciam o surgimento do bócio, composta por alimentos deficientes em iodo. A água oferecida continha Tiouracil, um agente bloqueador do hormônio da tireóide. À medida que os animais desenvolviam o bócio, eram separados em dois grupos: um controle e um experimental, que eram expostos ao tratamento por imposição de mãos. Também foram criados subgrupos para controlar a possível influência de fatores como os efeitos térmicos produzidos pelas mãos do terapeuta e os efeitos comportamentais resultantes da manipulação dos ratos pelos tratadores.

O primeiro subgrupo de controle não recebia nenhum tratamento. Os ratos do segundo subgrupo de controle foram colocados em gaiolas envolvidas por fitas eletrotérmicas que simulavam o calor produzido pelas mãos humanas.

Os animais pertencentes ao grupo que seria submetido ao tratamento por imposição de mãos eram colocados em uma gaiola especial onde o aplicador poderia tratar vários deles simultaneamente, durante quinze minutos por dia.

O experimento foi realizado em 40 dias, sendo que no final desse período todos os ratos foram examinados para que se determinasse quantos animais em cada grupo apresentavam um bócio significativo. Embora todos os animais apresentassem um aumento no tamanho da tireóide ao término do período de teste de quarenta dias, verificou-se que os animais tratados apresentavam uma proporção significativamente mais baixa de casos de bócio.

Utilizando-se de uma metodologia semelhante quanto a forma e tempo de tratamento, LEI (1991) estudou os efeitos de um tratamento de Qi Gong em camundongos inoculados com diferentes linhagens tumorais (*Erlich* e Sarcoma-180) sobre a atividade citotóxica NK de células esplênicas, citólise tumoral mediada por macrófagos e níveis de produção de IL-2. Os resultados demonstraram que o tratamento empregado, além de apresentar um efeito inibidor sobre o crescimento de ambas linhagens tumorais, elevou os efeitos das funções imunológicas antitumorais, através de uma elevação da atividade citotóxica das células NK esplênicas.

Estes resultados em modelos animais de experimentação, embora com modelos que possam ser discutidos, reforçam a sugestão de que tratamentos de imposição de mãos, independentemente da técnica empregada, produzem alterações fisiológicas, principalmente no sistema imunológico, e que provavelmente independam de fatores condicionantes, sejam eles ambientais ou psicológicos, envolvidos com o efeito placebo.

TILLER (1999) formula a hipótese de que os tratamentos por imposição de mãos produzam seus efeitos a partir da transmissão de energias sutis. Segundo este autor, *as energias sutis podem ser definidas como sendo todas as formas de energias além daquelas atualmente reconhecidas pela física.*

A natureza física dessas energias ainda não está esclarecida, porém, tem sido sugerida uma ligação destas com radiações infravermelhas, de característica calórica, visto que há relatos de sensações térmicas de calor por parte de praticantes e pacientes das diversas modalidades de imposição de mãos (OSCHMAN, 2000).

As radiações infravermelhas são invisíveis, possuem comprimento de onda entre 700 e 1500nm e são mais penetrantes que a luz visível e a radiação ultra-violeta. Atravessam totalmente a pele, alcançando até mesmo a hipoderme, mas, a medida que seu comprimento de onda aumenta, esta propriedade é gradualmente perdida. Devido às suas propriedades as radiações infravermelhas têm sido empregadas largamente pela medicina convencional para o tratamento de diversas doenças (OSCHMAN, 2000; NAESER, 2002).

Ao longo das últimas décadas, cientistas de diversas áreas vêm tentando desenvolver conexões lógicas e mensuráveis entre os campos sutis de energia biológica, com a finalidade de tentar compreender como estes são gerados e como podem ser afetados em diferentes situações.

Para tanto, vários experimentos vêm sendo conduzidos com o intuito de investigar e procurar maiores explicações físicas sobre estas energias e, também, como elas podem ser transmitidas pelo ser humano (OSCHMAN, 2000).

ZIMMERMAN (1990) e SETO (1992) conduziram experimentos que demonstraram a produção de pulsos eletromagnéticos de frequência variável pelas mãos de terapeutas de diversas modalidades de imposição de mãos, com a utilização de magnetômetros.

TILLER (1999) descreve em seu artigo seis experimentos nos quais ele utilizou desde simples câmeras fotográficas até aparelhos sofisticados de eletroeletrônica para estudar as energias sutis. Em todos os experimentos foram observados resultados sugestivos com diferenças significativas dos grupos experimentais em relação aos seus controles, o que levou o pesquisador a concluir que as energias sutis existem e que sua propagação pode ser documentada, por exemplo, através de fotos ou aparelhos elétricos que medem o deslocamento de partículas de gás.

Há também uma grande possibilidade de que *a imposição de mãos provoque seus efeitos fisiológicos através da interação entre os campos bioeletromagnéticos próprios de cada ser vivo, uma vez que estes possuem certas potencialidades e polaridades elétricas, que podem ser atribuídas à direção da rotação dos elétrons* (OSCHMAN, 2000).

É importante ressaltar que os *campos bioeletromagnéticos se modificam de momento a momento, sendo afetados pelos eventos energéticos que estão ocorrendo ao seu redor, constituídos por diferentes*

tipos de forças energéticas, como a eletromagnética ou a gravitacional
(OSCHMAN, 2000).

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Linfoproliferações Experimentais (LIM-31) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, conforme projeto nº 552/02, aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq, da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Foram utilizados 60 camundongos machos, com três meses de idade, da linhagem isogênica HAM/ICR – CD-1, divididos em três grupos com vinte animais: um chamado **Controle**, um chamado **Controle-Luva** e outro chamado **Impostação**.

Os vinte animais de cada grupo foram distribuídos em quatro subgrupos de cinco animais, em gaiolas-padrão, de plástico, e foram criados e mantidos no biotério do Laboratório de Linfoproliferações Experimentais, recebendo alimentação normal comercial (Nuvilab CR1) e água filtrada ad libitum, permanecendo em temperatura ambiente e com iluminação 12/12 horas.

No grupo Controle foram utilizados 20 animais, que não receberam nenhum tipo de tratamento.

No grupo Controle-Luva foram utilizados 20 animais, que receberam o seguinte tratamento: durante 15 minutos, por quatro dias consecutivos, foram colocadas sobre cada uma das gaiolas de criação dos animais deste grupo um par de luvas preenchidas de algodão, presas a um cabo de madeira que era segurado a cerca de um metro por uma pessoa (Figura 2).



Figura 2: Tratamento com luvas sobre o grupo de animais dentro da gaiola de criação, sem contato físico direto.

No grupo Impostação foram utilizados 20 animais, que receberam o seguinte tratamento: durante 15 minutos, por quatro dias consecutivos, uma mesma pessoa impostou suas mãos diretamente sobre cada gaiola de criação dos animais deste grupo, sem contato físico direto com os mesmos (Figura 3).



Figura 3: Tratamento pela imposição de mãos sobre o grupo de animais dentro da gaiola de criação, sem contato físico direto.

No quarto dia de cada experimento, os 20 animais utilizados foram sacrificados por deslocamento cervical, para colheita de material a ser utilizado nos procedimentos laboratoriais, que envolveram a realização de leucograma específico, contagem de plaquetas do sangue periférico e realização de ensaio de citotoxicidade de células não-aderentes com atividade *Natural Killer* e *Lymphokine Activated Killer*.

O emprego do deslocamento cervical como método de sacrifício dos animais, sem a utilização de meios analgésicos, foi escolhido devido ao fato da utilização de outros métodos, inclusive com o uso de gases como o dióxido de carbono, produzirem alterações na resposta imunológica (EVRARD, 1997; PECAUT, 2000) cuja avaliação constituiu-se em um dos objetivos de nosso estudo.

Metodologia

A partir das amostras de sangue que foram recolhidas por punção cardíaca dos animais, sacrificados por deslocamento cervical, foram realizados:

Leucograma Específico

Para a realização da leucometria específica foram preparados dois esfregaços de sangue de cada animal, utilizando o método de coloração de Leishman.

A contagem específica dos leucócitos foi realizada pelo método do ziguezague em quatro campos (Método de Schilling), onde foram contadas 200 células com o auxílio de um contador Clay-Adams ®.

Contagem de Plaquetas

Para a contagem de plaquetas, foi utilizado o método direto, descrito por BRECHER e CRONKITE (1950), em microscópio com contraste de fase, marca Carl Zeiss ®.

Valor normal do número de plaquetas referido nas diferentes linhagens de camundongos: 100.000 – 1.000.000/ mm³ (BANNERMAN, 1983).

Avaliação da resposta imunológica

A avaliação da resposta imunológica foi realizada por meio de ensaio citotóxico, no quarto dia de cada experimento, seguindo o seguinte protocolo:

Obtenção de células efectoras

Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Foram retirados os baços, colocados individualmente em placas de Petri, contendo solução de RPMI 1640 (SIGMA®) acrescida de 10% de soro fetal bovino (FCS) e, em seguida, macerados obtendo-se suspensões de células mononucleares.

Separação dos Linfócitos T, B e células com atividade Natural killer (NK)

As suspensões celulares foram aspiradas com auxílio de pipeta Pasteur e colocadas em estufa 37°C por 30 minutos em colunas com 0,2g de algodão de Nylon (Robbins Scientific® -Nylon Wool – Type 200L) embebidas em 3ml de solução de RPMI 1640 com 10% de FCS, já previamente incubadas em estufa 37°C. Desta forma as células aderentes, linfócitos B, foram separadas das não-aderentes, ficando aderidas ao algodão. Após incubação foram filtradas e acondicionadas em tubos de ensaio com capacidade para 15ml. (JULLIUS, 1973; POZZI, 1982).

As suspensões dos linfócitos T foram lavadas sob centrifugação a 300g durante 10 minutos, por três vezes com solução de RPMI 1640. No grupo Controle os botões celulares resultantes no fundo do tubo foram ressuspensos na mesma solução, e acertados para as concentrações de 1×10^6 , 5×10^5 e $2,5 \times 10^5$ células/ml, para realização de verificação da concentração com resultados mais confiáveis no ensaio citotóxico. Nos grupos Controle-Luva e Impostação os botões celulares resultantes no fundo do tubo foram ressuspensos na mesma solução, e acertados apenas para a concentração de 1×10^6 células/ml, que apresentou os resultados mais confiáveis no ensaio citotóxico.

Células Alvo DAUDI e YAC-1

As células alvo NK-resistentes tipo DAUDI foram obtidas no banco de células do Laboratório de Hematologia do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, com procedência garantida, cedidas pela Profa. Dra. Primavera Borelli.

As células YAC-1 foram obtidas do banco de células do Laboratório de Linfoproliferações Experimentais (LIM-31).

As células DAUDI e YAC-1 foram cultivadas em garrafas plásticas de cultura (FALCON®), numa concentração de 10^5 células/ml com 20 ml de RPMI 1640 e mantidas em estufa a 37°C com 5% de atmosfera de CO_2 $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$. A cada três dias o meio foi trocado e a viabilidade das células, verificada através de microscopia óptica. Nos dias dos ensaios, foram retiradas alíquotas de 100 μl das garrafas de cultura e adicionados 100 μl de Azul Tripán em cada amostra, para verificar a viabilidade e acertar a concentração celular para 1×10^4 células/ml. O conteúdo das garrafas foi lavado duas vezes, em RPMI 1640, por centrifugação a 300g durante 10 minutos.

Após a lavagem foi feita a marcação radioativa das células-alvo adicionando-se 150 $\mu\text{Ci/ml}$ de cromato de sódio $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ (IPEN-CNEN/SP) ao botão de células, em quantidade calculada no dia da utilização do radioisótopo através da tabela de decaimento de atividade radioativa. A mistura foi incubada em banho-maria a 37°C por uma hora com

homogeneização periódica. Após esse período o radioisótopo não ligado à célula foi retirado através de lavagem com solução de RPMI 1640 por três vezes e as células ressuspensas para a concentração de 1×10^4 células/ml.

Citotoxicidade

Este método avaliou *in vitro* a capacidade das células mononucleares reconhecerem e lisarem as células alvo YAC-1 e DAUDI. A atividade dos linfócitos foi medida através da quantidade de $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ liberada pelas células-alvo no sobrenadante das culturas.

Foram preparadas placas descartáveis, de 96 orifícios com fundo U, onde foram colocados em cada orifício 100µl da suspensão de células efetoras e adicionados 100µl da suspensão de células-alvo marcada com $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$, sendo este procedimento realizado em triplicata para cada amostra, na razão célula efetora – alvo de 100:1. Nos controles foram colocados 100µl células-alvo e 100µl de solução RPMI 1640. As placas foram incubadas a 37°C por 4 horas em câmara úmida. Após a incubação, a placa foi centrifugada a 200g por cinco minutos; após esse período de rotação foram aspirados 100µl do sobrenadante de cada amostra, sendo que dos controles foram aspirados também os botões de células precipitadas e, então, realizada a leitura em contador gama (Gamma Counter/Pharmacia®) durante um minuto. O cálculo da porcentagem de lise foi feito segundo o método de Herbermann R. B. e colaboradores, utilizando a fórmula a seguir (BRUNNER, 1976; KAY & HORWITZ, 1980):

$$\% \text{ lise} = \frac{(\text{liberação da amostra} - \text{liberação espontânea})}{(\text{incorporação total} - \text{liberação espontânea})} \times 100$$

liberação da amostra = média das contagens das triplicatas

liberação espontânea = média das contagens do sobrenadante dos controles

incorporação total = média das contagens dos botões de células

Análise estatística

No presente trabalho aplicamos o Teste-t Student. Foram considerados significativos os valores (“p”) menores que 0,05.

RESULTADOS

RESULTADOS

Os resultados obtidos nos grupos Controle (n=20); Controle-Luva (n=20) e Impostação (n=20) são apresentados sob os aspectos referentes à realização de leucograma específico pela coloração de Leishman, contagem de plaquetas pelo método direto (BRECHER e CRONKITE, 1950) e atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade *Natural Killer* (NK) e *Lymphokine Activated Killer* (LAK).

A realização do leucograma específico pela coloração de Leishman não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as contagens de Neutrófilos e Linfócitos, com valores de $p > 0,05$. Constatou-se uma diferença significativa entre os grupos apenas na contagem do número de monócitos, que apresentou-se elevada nos animais do grupo Impostação em relação aos animais do grupo Controle e Controle-Luva, com valor de $p < 0,05$ (Anexo – Tabelas 1, 2 e 3) (Figura 4).

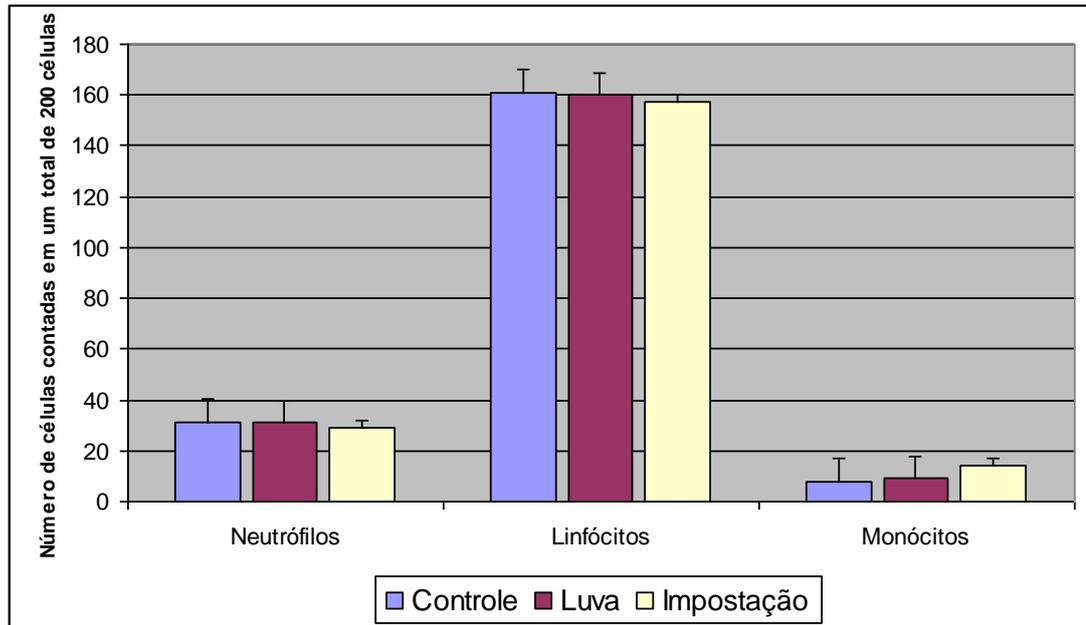


Figura 4: Leucograma específico realizado nos grupos Controle, Controle-Luva (Luva) e Impostação, através de coloração de Leishman – média das contagens específicas para neutrófilos, linfócitos e monócitos, de um total de 200 células contadas. A análise estatística demonstrou diferença significativa entre os grupos apenas para o número de monócitos, que se apresentou elevado nos animais do grupo impostação ($p < 0,05$).

Na contagem de plaquetas pelo método direto, foi constatada uma diferença significativa entre os grupos Controle e Impostação e entre os grupos Controle-Luva e Impostação ($p < 0,05$), com uma diminuição da contagem das plaquetas dos animais do grupo Impostação (Anexo – Tabela 4) (Figura 5).

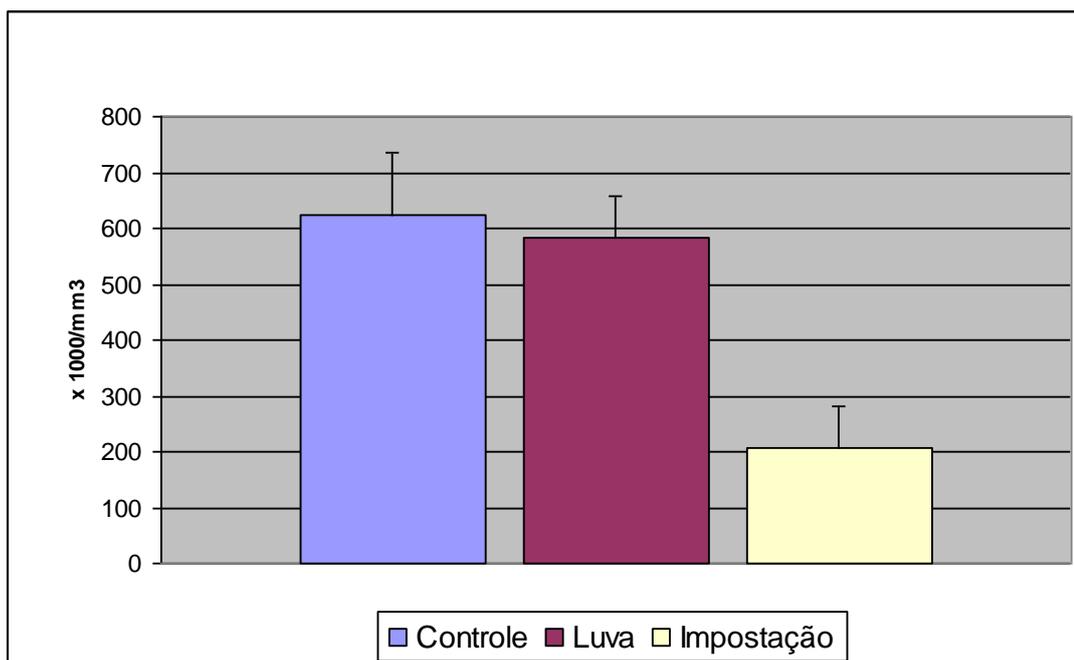


Figura 5: Contagem de plaquetas, realizadas nos grupos Controle, Controle-Luva (Luva) e Impostação, através do método direto. A análise estatística demonstrou diferença significativa entre os grupos Controle e Controle-Luva em relação ao grupo Impostação ($p < 0,05$).

Utilizando-se do grupo Controle, os ensaios de atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade NK contra células-alvo YAC-1 e atividade LAK contra células-alvo DAUDI, utilizando-se de três razões de células efectoras-alvo (100:1; 50:1 e 25:1), evidenciaram que a razão célula efectora-alvo que apresentou resultados mais confiáveis foi a de 100:1, sendo esta adotada para o nosso trabalho (Figura 6).

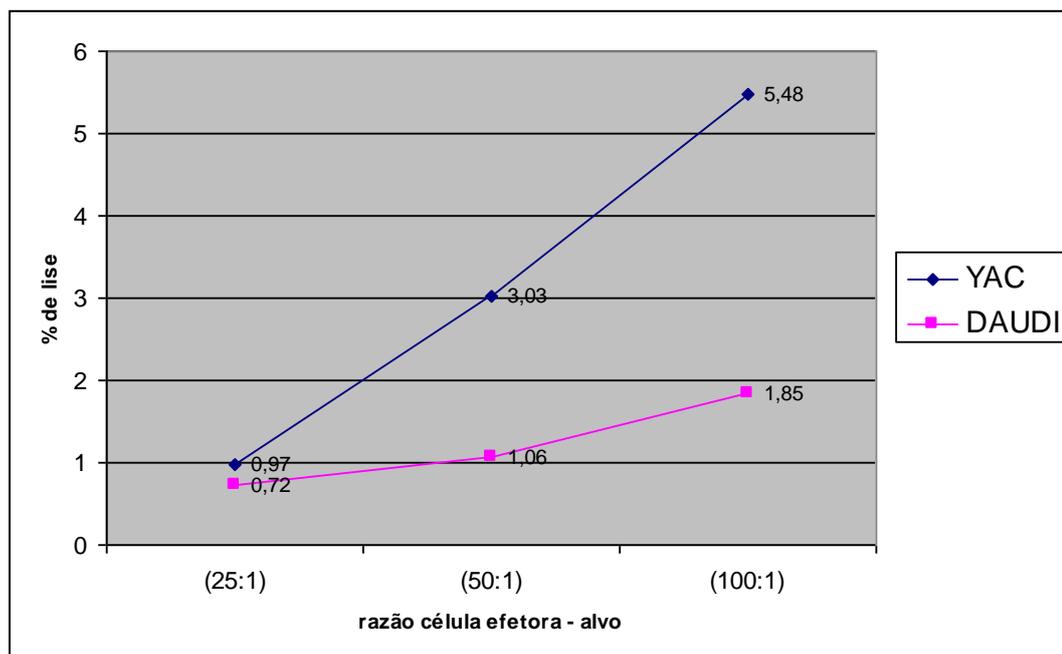


Figura 6: Atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade *Natural killer* contra células-alvo YAC-1 e *Lymphokine activated killer* contra células-alvo DAUDI. A melhor expressão da atividade citotóxica foi verificada na razão célula efetora-alvo 100:1. Valores de desvio padrão: Célula-alvo YAC-1 – razão 25:1 (3,6); razão 50:1 (3,11); razão 100:1 (1,9). Célula-alvo DAUDI – razão 25:1 (1,65); razão 50:1 (4,17); razão 100:1 (0,85).

Para a atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade NK contra células-alvo YAC-1, pudemos observar uma diferença significativa entre os grupos Controle e Controle-Luva em relação ao grupo Impostação, verificando-se uma elevação da atividade citotóxica apenas no grupo Impostação onde a estatística demonstrou um $p < 0,005$. (Figura 7) Notou-se, também, uma diferença significativa entre os grupos quanto à atividade LAK contra células-alvo DAUDI, verificando-se uma elevação significativa da atividade citotóxica apenas no grupo Impostação, onde a estatística demonstrou um $p < 0,005$ (Figura 8).

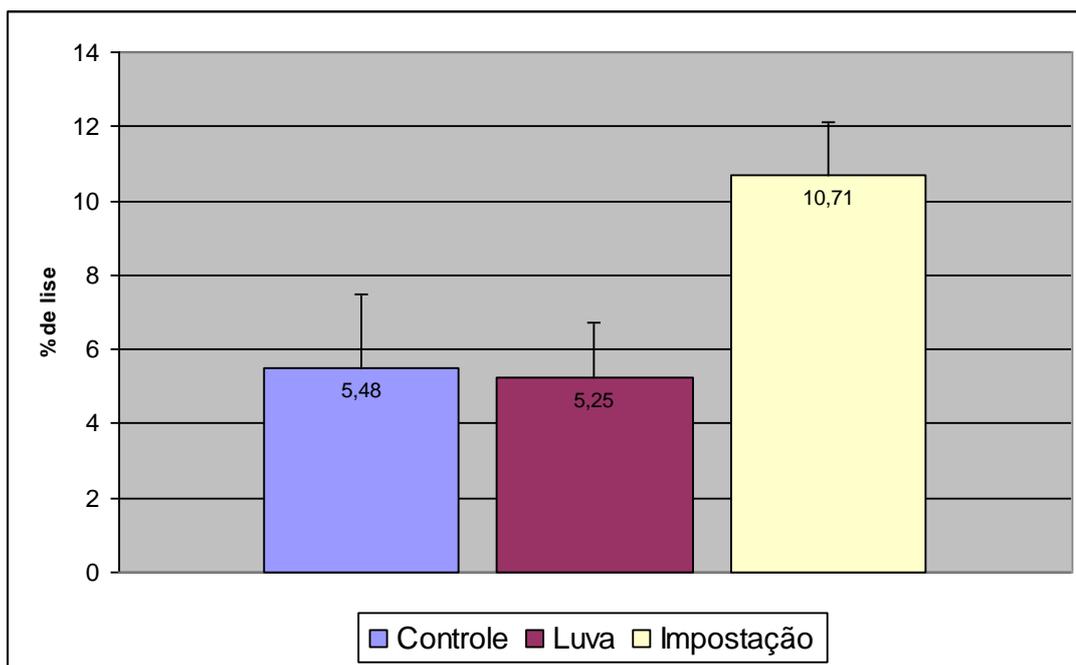


Figura 7: Atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade Natural killer contra células-alvo YAC-1, nos grupos Controle (n=20), Controle-Luva (Luva) (n=20) e Impostação (n=20). A análise estatística demonstrou diferenças significativas entre os grupos Controle e Impostação e entre os grupos Controle-Luva e Impostação ($p < 0,005$). Valores de desvio padrão: grupo Controle (1,99), grupo Controle-Luva (1,50), grupo Impostação (1,39).

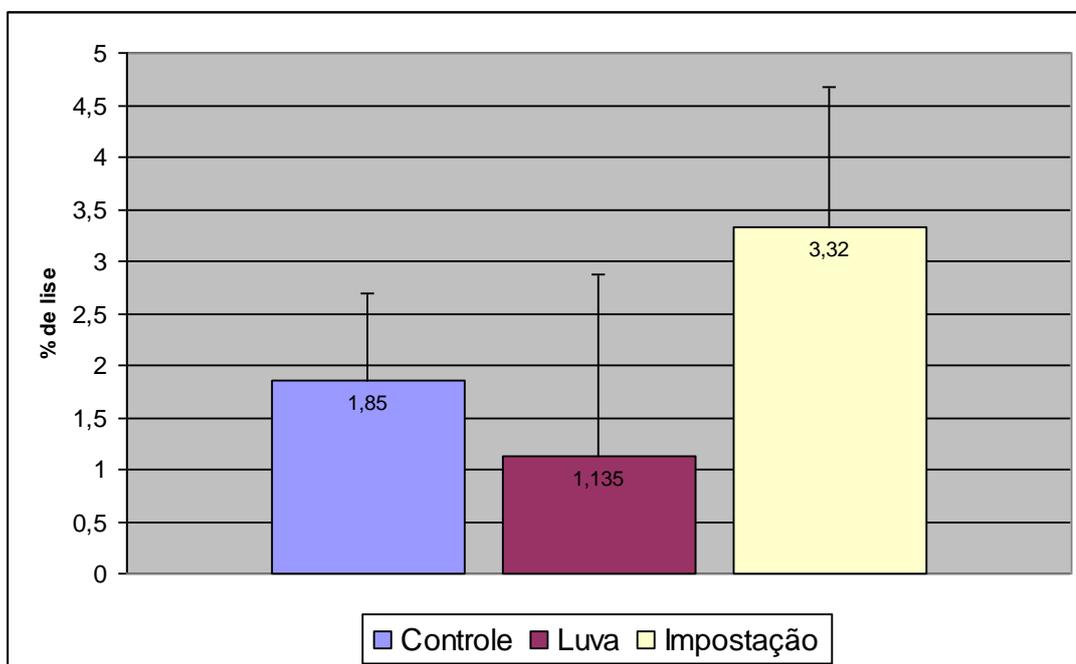


Figura 8: Atividade citotóxica de células não-aderentes com atividade *Lymphokine activated killer* contra células-alvo DAUDI, nos grupos Controle (n=20), Controle-Luva (Luva) (n=20) e Impostação (n=20). A análise estatística demonstrou diferenças significativas entre os grupos Controle e Impostação e entre os grupos Controle-Luva e Impostação ($p < 0,005$). Valores de desvio padrão: grupo Controle (0,85), grupo Controle-Luva (1,75), grupo Impostação (1,35).

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

No presente trabalho, aplicamos a impostação de mãos de uma mesma pessoa, sem um contato físico direto. Nossos achados referem-se à ação da impostação de mãos sobre organismos em sua totalidade, camundongos mantidos normalmente em suas próprias gaiolas de criação e grupo social.

Na avaliação hematológica, a leucometria específica demonstrou diferenças significativas entre os grupos Controle e Controle-Luva em relação ao grupo Impostação, apenas no número de monócitos.

A discreta, mas significativa, elevação do número de monócitos dos animais do grupo Impostação não está explicada. Apesar de diversos artigos referirem o estabelecimento de uma monocitose como um indício de estresse (FELDMAN, 1984; MEEHAN, 1993; SEVERS, 1996; ANDERSON, 1999), os resultados relativos aos demais parâmetros avaliados no nosso trabalho, como a contagem de plaquetas e a avaliação da citotoxicidade de células não-aderentes, não sugerem este estado fisiológico nos animais do grupo Impostação.

Também podemos sugerir uma correlação deste resultado com a Interleucina-6 (IL-6), uma vez que há relatos na literatura que descrevem um efeito regulador desta interleucina sobre a diferenciação e proliferação de

linhagens de células mielomonocíticas e também sobre células precursoras hematopoiéticas (WONG, 1988; LIECHTY, 1990; JILKA, 1995).

Segundo a literatura, tal efeito apresenta uma possível correlação com os níveis do hormônio sexual estrógeno, que possivelmente exerceria efeitos inibitórios sobre a produção da IL-6 (GIRASOLE, 1992; PASSERI, 1993).

A possibilidade de que este hormônio sexual possa ter um impacto significativo sobre a hematopoiese, regulada através da ação da IL-6, é sugerida por uma série de evidências. JILKA (1995) e MANOLAGAS (1998, 2002) descrevem vários experimentos em camundongos nos quais verificou-se uma elevação nos níveis de IL-6 após uma redução dos níveis de estrógeno, resultando em uma elevação do número de unidades formadoras de colônias de granulócitos e monócitos (CFU-GM) e também de monócitos circulantes no sangue periférico.

A redução significativa no número de plaquetas dos animais do grupo Impostação, em relação aos animais dos grupos Controle e Controle-Luva, poderia talvez estar associada a níveis reduzidos dos hormônios sexuais.

A literatura descreve tanto o estrógeno como a testosterona como hormônios estimuladores da trombocitopoiese em camundongos (LANDSHMAN, 1979; SULLIVAN, 1995). Há relatos da existência de receptores para estrógeno (ER α e β), progesterona (PR) e andrógenos (AR) nas linhagens megacariocíticas e nas plaquetas (KHETAWAT, 2000; BRANCAMONTE, 2001; NEALEN, 2001).

Esta possível correlação deverá ser estudada oportunamente através da realização das dosagens dos hormônios sexuais dos animais dos três grupos. Para tanto, as amostras de soro dos animais foram estocadas em condições apropriadas para serem futuramente utilizadas para as dosagens, que requerem reagentes específicos para camundongos.

Também deverão ser realizados estudos futuros para avaliar a coagulação e a função plaquetária, uma vez que os animais do grupo Impostação não apresentaram alterações clínicas aparentes.

Os níveis aumentados de citotoxicidade de células não-aderentes com atividade NK e LAK encontrados nos animais do grupo Impostação, quando em comparação com os animais do grupo Controle e Controle-Luva, poderiam talvez estar correlacionados com os níveis estrogênicos.

Diversos experimentos *in vitro* e *in vivo*, demonstraram que o estrógeno tem uma ação que varia com a dose e tempo de exposição, produzindo resultados experimentais diversos, tanto no que se refere à sua ação no sistema imunológico, principalmente nas células com atividade NK, quanto na proliferação celular. A literatura relata que o estrógeno atua na função imunológica, sobretudo na atividade citotóxica linfocitária, através de receptores farmacológicos tipo I (ER I) e tipo II (ER II), existentes nos linfócitos (ALBIERO, 1994; HARTIG, 1997; LAROCCA, 1990).

Tem sido demonstrado que níveis normais de estrógeno levam a um aumento da atividade citotóxica das células com atividade NK e também de macrófagos; por outro lado níveis elevados induzem a apoptose dos linfócitos e afetam também os macrófagos, enquanto que níveis abaixo do

fisiológico normal deprimem ambas as funções (ZHANG, 1997; KNISS, 1998; POZZI, 1999).

O estrógeno também é um importante regulador da expressão de citocinas pró-inflamatórias derivadas das células do sistema imunológico (ZAJCHOWSKI, 2000). Tal regulação pode ser sugerida pela expressão diferenciada dessas citocinas durante o ciclo ovulatório. Pesquisadores identificaram a expressão do RNA-mensageiro do TNF alfa, IL-1 e IL-6 no útero de camundongos e relataram que os níveis de proteína e RNA mensageiro das três citocinas variaram com o ciclo estral (MARSH, 1996).

Também há relatos de que o estrógeno estaria ligado à regulação da produção de IL-2, uma das citocinas responsáveis pela expansão e ativação de células com atividade NK e LAK (AHMED 1984; PUNG 1985; ELBOURNE, 1998).

Em recente artigo, MCMURRAY (2001) relata que altas concentrações de estrógeno e, também, exposições prolongadas a determinadas concentrações deste hormônio podem bloquear a resposta de ativação das células linfóides, além de inibir a produção de IL-2 e suprimir seu receptor.

Em trabalhos posteriores deverá ser realizada a dosagem desta interleucina, uma vez que a literatura atribui a ela tanto a formação quanto a ativação de células com propriedades LAK (POBER, 1991; VERSTEEG, 1992; BARAL, 1996; KAGI, 1996).

Considerando que os seres vivos têm campos eletromagnéticos (GREENE, 2001), podemos sugerir que o conjunto de alterações fisiológicas encontradas, decorrentes do tratamento de impostação de mãos aplicado sobre os animais possam estar ligados a interações entre os campos eletromagnéticos dos animais e da pessoa que realizou a impostação, visto que não verificamos diferenças estatisticamente significativas entre os grupos Controle e Controle-Luva para nenhum dos parâmetros avaliados, que mostraram resultados bastante diferentes dos encontrados no grupo Impostação.

Com estes dois grupos Controle demonstramos que a simples exposição de um organismo a um objeto, com formas e dimensões aproximadas a de uma mão humana, não produz os mesmos resultados encontrados nos animais que receberam o tratamento de impostação de mãos de uma pessoa.

A semelhança entre os resultados encontrados entre os grupos Controle e Controle-Luva sugere fortemente que os resultados encontrados no grupo Impostação não são decorrentes de um efeito placebo, que tem sido explicado como uma resposta condicionada do organismo, constituindo-se em um fenômeno que envolve interações entre a mente, as emoções, e diferentes sistemas, principalmente o endócrino e o imunológico, o que poderia constituir um acesso para mecanismos internos, naturais e que poderiam desencadear tanto processos patológicos quanto de cura (ADER, 1975, 1988; BYERLY, 1976; LEVINE, 1978; STEFANO, 2001).

Segundo OSCHMAN (2000), *os campos energéticos dos seres vivos se modificam de momento a momento, sendo afetados pelos demais eventos energéticos que estão ocorrendo ao seu redor, constituídos por diferentes tipos de forças energéticas, como a eletromagnética ou a gravitacional.*

Vários estudos vêm comprovando as ações benéficas dos campos eletromagnéticos sobre os seres vivos, indicando inclusive que exposições de curta duração a campos eletromagnéticos de baixa frequência podem modular a proliferação de células do sistema imunológico (JOHNSON, 2001).

Experimentos *in vitro* também demonstraram a apoptose de células tumorais em cultura quando estas são expostas a campos eletromagnéticos de baixa frequência, devido a alterações produzidas por estes campos energéticos na estrutura de diferentes organelas celulares (SOMOSY, 2000; TOFANI, 2001).

Dessa maneira, a possibilidade de que nossos resultados estejam relacionados à interação entre os campos eletromagnéticos dos animais e da pessoa que aplicou o tratamento de imposição de mãos pode também estar relacionada à curta duração de cada aplicação.

A literatura relata que a exposição prolongada a campos eletromagnéticos pode ser relacionada ao aparecimento de tumores como, por exemplo, linfomas (FAM, 1996; LACY-HULBERT, 1998).

Há uma possibilidade de que esse fenômeno, secundário a exposições prolongadas a campos eletromagnéticos, ocorra por uma supressão da produção de melatonina, um hormônio de liberação noturna que pode afetar todas as células do corpo, inclusive as células glandulares, resultando em um aumento dos níveis de prolactina e estrógeno, podendo afetar diretamente a resposta imunológica (BLACKMAN, 2001).

O efeito da melatonina sobre o sistema imunológico não está bem definido, sendo que a literatura relata a presença de receptores para esta substância nos linfócitos (MAESTRONI, 1996; REITER, 2000; BLACKMAN, 2001).

A área de energia, que envolve todos os seres e objetos, é ainda uma das grandes questões da física e, atualmente, ainda se procura uma resposta para as inúmeras questões não respondidas pelas teorias de Einstein e da física quântica (GREENE, 2001).

Nossos resultados sugerem uma alteração fisiológica decorrente do tratamento empregado e que há que se estudar por que ela ocorre, buscando um fator comum que explique o conjunto de resultados obtidos.

Inúmeras hipóteses poderão ser formuladas, pois a energia provavelmente deve atuar sobre o organismo na sua totalidade, podendo afetar a proliferação celular, produção hormonal e muitas outras funções.

Talvez um início seja explorar melhor a função celular linfocitária, a coagulação, inclusive plaquetas, e eventuais correlações com a IL-2, IL-6 e hormônios esteróides.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

- A impostação de mãos sobre o corpo de animais produziu as seguintes alterações fisiológicas que puderam ser constatadas, com significância estatística:

- Elevação na contagem do número de monócitos ($p < 0,05$);
- Diminuição na contagem do número de plaquetas ($p < 0,05$);
- Elevação da citotoxicidade de células não-aderentes com atividade NK e LAK ($p < 0,005$).

- Os grupos Controle e Controle-Luva tiveram resultados semelhantes;

- A diferença dos resultados obtidos entre os grupos Controles e o grupo Impostação não sugerem que as alterações fisiológicas encontradas sejam decorrentes de condicionamento dos animais ou efeito placebo.

- Novos estudos experimentais devem ser realizados para melhor avaliar os efeitos dessa prática, investigando a função plaquetária e os diversos fatores que podem estar envolvidos nessa resposta e na regulação das respostas imunológicas e endócrinas.

- Entre os fatores a serem avaliados para uma melhor caracterização desta resposta devem ser dosados a IL-2, a IL-6 e IFN, assim como os hormônios que podem estar envolvidos nessas respostas, como os hormônios sexuais, o ACTH, o CRH e as catecolaminas.

ANEXOS

TABELA 1: Resultados da Leucometria específica pela coloração de Leishman dos camundongos do grupo Controle, onde foram contadas duzentas (200) células por lâmina de cada animal.

Controle			
Animal	Neutrófilo	Linfócito	Monócito
1	25	165	10
2	21	160	19
3	36	154	10
4	11	179	10
5	35	159	6
6	8	179	13
7	37	158	5
8	19	156	15
9	53	132	15
10	35	158	7
11	29	162	9
12	27	163	10
13	30	164	6
14	42	151	7
15	33	163	4
16	20	172	8
17	32	162	6
18	27	164	9
19	41	154	5
20	37	156	7
Média	31	161	8
Desvio padrão	9,17	8,61	2,81

TABELA 2: Resultados da Leucometria específica pela coloração de Leishman dos camundongos do grupo Controle-Luva, onde foram contadas duzentas (200) células por lâmina de cada animal.

Controle-Luva			
Animal	Neutrófilo	Linfócito	Monócito
1	39	154	7
2	31	163	6
3	16	176	8
4	37	156	7
5	20	168	12
6	30	162	8
7	36	154	10
8	16	175	9
9	48	144	8
10	42	142	16
11	36	154	10
12	30	158	12
13	19	167	14
14	28	163	9
15	31	161	8
16	29	168	3
17	41	154	5
18	39	154	7
19	18	178	4
20	32	154	14
Média	31	160	9
Desvio padrão	30,9	8,6	3,38

TABELA 3: Resultados da Leucometria específica pela coloração de Leishman dos camundongos do grupo Impostação, onde foram contadas duzentas (200) células por lâmina de cada animal.

Impostação			
Animal	Neutrófilo	Linfócito	Monócito
1	12	162	26
2	26	157	17
3	20	170	10
4	15	183	2
5	24	152	24
6	46	141	13
7	33	161	6
8	25	157	18
9	26	162	12
10	33	154	13
11	34	152	14
12	25	163	12
13	24	161	15
14	30	161	9
015	48	141	11
16	24	167	9
17	27	159	14
18	39	150	11
19	42	133	25
20	44	141	15
Média	29	157	14
Desvio padrão	9,3	11,24	6,03

TABELA 4: Resultados da contagem de plaquetas expressos em mil por milímetro cúbico (1000/mm³) dos camundongos machos dos grupos Controle, Controle-Luva e Impostação.

Animal	Grupo		
	Controle	Controle-Luva	Impostação
1	515	719	213
2	608	515	402
3	583	673	155
4	640	577	196
5	495	545	139
6	712	639	143
7	615	496	183
8	885	523	276
9	663	707	115
10	665	518	137
11	598	509	195
12	755	475	228
13	503	633	147
14	637	523	257
15	517	624	187
16	624	735	219
17	783	504	158
18	413	545	174
19	529	601	369
20	702	576	225
Média	622,10	581,85	205,90
Desvio padrão	112,11	80,35	74,50

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADER R, COHEN N. Behaviorally conditioned immunosuppression. **Psychosom. Med.**, v.37, n.4, p.333-40, 1975.
- ADER R. On the development of psychoneuroimmunology. **Eur. J. Pharmacol.**, v.405, p.167-76, 2000.
- ADER R. Psychoneuroimmunology. **ILAR J.**, v.39, n.1, p.27-29, 1998.
- ADER R. Conditioned immune responses: adrenocortical influences. **Prog. Brain Res.**, v.72, p. 79-90, 1987.
- ADER R, COHEN N, FELTEN DL. Brain, behavior, and immunity. **Brain Behav. Immun.**, v.1, n1, p.1-6, 1987.
- AHMED, S. A.; DAUPHINEE, M. J.; TALAN, N. Effects of short-term administration of sex hormones on normal and autoimmune mice. **Journal Immunology**, v. 134, p. 204-10, 1984.
- ALBIERO, A. L. **Expressão de receptores estrogênicos em linfonodos humanos**. São Paulo, 1994. 93p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- ANDERSON, B. H.; WATSON, D. L.; COLDITZ, I. G. The effect of dexamethasone on some immunological parameters in cattle. **Vet. Res. Commun.**, v. 23, n.7, p. 399-413, 1999.
- BANNERMAN, R. M. Hematology. In: FOSTER, L. F.; SMALL, J. D.; FOX, J. G., ed. **The mouse in biomedical research: normative biology, immunology, and husbandry**. New York, Academic Press, v. 3, p. 293-312, 1983.
- BARAL, E.; NAGY, E.; BERCZI, I. Modulation of lymphokine-activated killer cell-mediated cytotoxicity by estradiol and tamoxifen. **International Journal Cancer**, v. 66, p. 214-18, 1996.

BARAL, E.; NAGY, E.; KANGAS, L. BERCZI, I. Anti-estrogens enhance the therapeutic effect of lymphokine-activated killer cells on the p815 murine mastocytoma. **International Journal Cancer**, v. 67, p. 580-585, 1996.

BARAL, E.; NAGY, E.; KANGAS, L. BERCZI, I. Modulation of natural killer cell – mediated cytotoxicity by tamoxifen and estradiol. **Cancer**, v. 75, n.2, p. 591-599, 1995.

BIONDI, M.; PICARDI, A. Psychological stress and neuroendocrine function in humans: the last two decades of research. **Psychoter. Psychoso.**, v.68, n.3, p.114-50, 1999.

BJORNTORP, P. Stress and cardiovascular disease. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 161, n.640, p. 144-148, 1997.

BLACK, P. H.; Psychoneuroimmunology: brain and immunity. **Scientific American-Science & Medicine**, p.16-25, Nov/Dec, 1995.

BLACKMAN, C. F.; BENANE, S. G.; HOUSE, D. E. The influence of 1.2 μ T, 60Hz magnetic fields on melatonin – and tamoxifen – induced inhibition of MCF-7 cell growth. **Bioelectromagnetics**, v. 22, p. 122-128, 2001.

BORDIGNON, C.; CARLO-STELLA, C.; COLOMBO, M. P.; DE VICENTIIS, A.; LANATA, L.; LEMOLI, R. M.; LOCATELLI, F.; OLIVIERI, A.; RONDELLI, D.; ZANON, P.; TURA, S. Cell Therapy: achievements and perspectives. **Haematologica**, v. 84, p. 110-1149, 1999.

BOURIN, P.; MANSOUR, I.; DOINEL, C.; ROUE, R.; ROUGER, P.; LEVI, F. Circadian rhythms of circulating NK cells in healthy and human immunodeficiency virus-infected men. **Chronobiol Int.**, v.10, n.4, p.298-305, 1993.

BRANCAMONTE, M. P.; MILLER, V. M. Vascular effects of estrogens: arterial protection versus venous thrombotic risk. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 12, n. 5, p. 204-09, 2001.

BRUNNER, K.T.; ENGER, H.O. & CEROTTINI, J.C. The chromo-51 release assay as used for quantitative measurement of cell mediated cytotoxicity *in vitro*. In: **In vitro methods in cell mediated and tumor immunity** - Bloom, R.R. & David, J.R. - NY Academy Press. 423, 1976.

- BUCKINGHAM, J. C.; LOXLEY, H. D.; CHRISTIAN, H. C.; PHILIP, J. G. Activation of the HPA axis by immune insults: role and interactions of cytokines, eicosanoids, and glucocorticoids. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.54, n.1, p. 285-98, 1996.
- BULLOCK, M. Reiki: a complementary therapy for life. **Am J Hosp Palliat Care**, v.14(1), p.31-3, 1997.
- BURMEISTER, A.; MONTE, T. **The touch of healing**. first ed. USA. A Bantam Book. 1997. 183p.
- BRECHER, G.; CRONKITE, E, P. Morfology and enumeration of human platelets. **J. Appl. Physiol.**, v. 3, p. 365-72, 1950.
- BYERLY, H. Explaining and exploiting placebo effects. **Perspectives in Biology and Medicine**, v. 19, p. 423-36, 1976.
- CHEEVER, M.A.; GREENBERG, P.D.; FEFER, A.; GILLIS, S. Augmentation of the anti-tumor therapeutic efficacy of long-term cultured T lymphocytes by in vivo administration of purified interleukin 2. **J Exp Med.**, v.155, n.4, p.:968-80, 1982.
- CRABTREE, G. R.; SMITH, K. A.; MUNCK, A. Glucocorticoid receptors and sensitivity of isolated human leukemia and lymphoma cells. **Cancer Res.**, v. 38, p. 4268-4272, 1978.
- CRUSE, J. M.; LEWIS, R. E.; BISHOP, G. R. et. al. Decreased immune reactivity and neuroendocrine alterations related to chronic stress in spinal cord injury and stroke patients. **Pathobiology**, v. 61, n.3, p.183-92, 1993
- CRUSE, J. M.; LEWIS, R. E.; BISHOP, G. R. et. al. Neuroendocrine-immune interactions associated with loss and restoration of immune system function in spinal cord injury and stroke patients. **Immunol Res**, v. 11. n.2, p.104-16, 1992.
- DANTZER, R. Stress and immunity: what have we learned from psychoneuroimmunology? **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 161 n.640, p. 43-46, 1997.

DE VITA JR., V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. **Cancer – principles and practice of oncology**. 2nd edition, J. B. Lippincott, 1985.

DRACOTT BN, SMITH CE. Hydrocortisone and the antibody response in mice. I. Correlations between serum cortisol levels and cell numbers in thymus, spleen, marrow and lymph nodes. **Immunology**, v.38, n.2, p.429-35, 1979.

ELBOURNE KB, KEISLER, D, MCMURRAY RW. Differential effects of estrogen and prolactin on autoimmune disease in the NZB/NZW F1 mouse model of systemic lupus erythematosus. **Lupus**, v.7, n.6, p.420-7, 1998.

ELLERY, J. M.; NICHOLLS, P. J. Alternate signalling pathways from the interleukin-2 receptor. **Cytokine Growth Factors Reviews**, v. 13, p. 27-40, 2002.

ELLERY, J. M.; KEMPSHALL, S. J.; NICHOLLS, P. J. Activation on the interleukin 2 receptor: a possible role for tyrosine phosphatases. **Cellular Signalling**, v. 12, p. 367-373, 2000.

ETTINGHAUSEN, S.E.; LIPFORD, E.H. 3RD; MULE, J.J.; ROSENBERG, S.A. Recombinant interleukin 2 stimulates in vivo proliferation of adoptively transferred lymphokine-activated killer (LAK) cells. **J Immunol.**, v.135, n.5, p.3623-35, 1985.

EVRARD, S.; FALKENRODT, A.; PARK, A.; TASSETI, V. MUTTER, D.; MARESCAUX, J. Influence of CO₂ pneumoperitoneum on systemic and peritoneal cell-mediated immunity. **World Journal Surgery**, v. 21, n. 4, p. 353-6, 1997.

FAM, W. Z.; MIKHAIL, E. L. Lymphoma induced in mice chronically exposed to very strong low-frequency electromagnetic field. **Cancer Letters**, v. 105, p. 257-269, 1996.

FAIRCHILD, S. S.; MISHEL, R. I. Glucocorticosteroid response modifying factors. **Lymphokine Res.**, v. 1, n. 4, p. 113-20, 1982.

FELDMAN, B. F.; RUEHL, W.W. Interpreting absolute WBC counts. **Mod. Vet. Pract.**, v. 65, n.6, p. 446-9, 1984.

- FERNANDEZ, C.V.; STUTZER, C.A.; MACWILLIAM, L.; FRYER, C.
Alternative and complementary therapy use in pediatric oncology patients in British Columbia: prevalence and reasons for use and nonuse. **J Clin Oncol.**, v.16, n.4, p.1279-86, 1998.
- FOLKOW, B. Physiological aspects of the “defense” and “defeat” reactions. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 161,n.640, p. 34-37, 1997.
- GAFFEN, S. L. Signaling domains of the interleukin 2 receptor. **Cytokine**, v. 14, n.2, p. 63-77, 2001.
- GIASSON, M.; BOUCHARD, L. Effect of therapeutic touch on the well-being of persons with terminal cancer. **J Holist Nurs.**, v. 16, n.3, p.383-98,1998.
- GILLIS, S.; WATSON, J. Biochemical and biological characterization of lymphocyte regulatory molecules. V. Identification of an interleukin 2-producing human leukemia T cell line. **J Exp Med.**, v.152, n.6, p.1709-19, 1980.
- GIRASOLE, G.; JILKA, R.L.; PASSERI, G.; BOSWELL, S.; BODER, G.; WILLIAMS, D. C.; MANOLAGAS, S. C. 17 beta-estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. **J Clin Invest.**, v.89, n.3, p.883-91, 1992.
- GLIEDMAN, L. H.; GANTT, W. H.; TEITELBAUM, H. A. Some implications of conditional reflex studies for placebo research. **American Journal of Psychiatry**, v. 113, p. 1103-107, 1956.
- GOTAY, C. C.; HARA, W.; ISSELL, B. .F; MASKARIENEC, G. Use of complementary and alternative medicine in Hawaii cancer patients. **Hawaii Med. J.**, v.58(4), p.94-8, 1999.
- GRAD, B. Healing by the laying on of hands: a review of experiments, In: **Ways of health: holistic approaches to ancient and contemporary medicine**. New York, p. 267, 1979.
- GREENE, B. **O universo elegante – supercordas, dimensões ocultas e a busca da teoria definitiva**. Companhia das Letras, São Paulo, 2001.

HARRINGTON, A. **The placebo effect – an interdisciplinary exploration.**
Cambridge, Harvard University Press, 1997. 260 p.

HARTIG, P. R. A genome-based receptor nomenclature. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 812, p. 85-91, 1997.

HAWKINS, M. J. Interleukin-2 antitumor and effector cell responses.
Seminars in Oncology, v. 20, n. 6, p. 52-59, 1993.

HENRY, J. P. Psychological and physiological responses to stress: the right hemisphere and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis, an inquiry into problems of human bonding. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 161 n. 640, p. 10-25, 1997.

HERBERMAN, R.B. Natural killer cells. **Annu Rev Med.**, v.37, p.347-52, 1986.

HERBERMAN, R.B. Cancer immunotherapy with Natural killer cells. **Seminars in oncology.**, v.29, n.3, p.27-30, 2002.

HERRNSTEIN, R. J. Placebo effect in the rat. **Science**, v. 138, p. 677-78, 1962.

IRWIN M, HAUGER RL, JONES L, PROVENCIO M, BRITTON KT.
Sympathetic nervous system mediates central corticotropin-releasing factor induced suppression of natural killer cytotoxicity. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.255, n.1, p.101-7, 1990.

JILKA, R.L.; PASSERI, G.; GIRASOLE, G.; COOPER, S.; ABRAMS, J.; BROXMEYER, H.; MANOLAGAS, S.C. Estrogen loss upregulates hematopoiesis in the mouse: a mediating role of IL-6. **Exp Hematol.**, v.23, n.6, p.500-6, 1995.

JULLIUS, N.H.; SIMPSON, E. & HEZENBERG, L.A. A rapid method for isolation of functional murine lymphocytes. **Eur. Immunol.**, v.3, p.645, 1982.

JOHNSON, M. T.; VANSKOY-CORNETT, A.; VESPER, D. N.; SWEZ, J. A.; CHAMBERLAIN, J. K.; SEAWARD, M. B.; NINDL, G.; Electromagnetic fields used clinically to improve bone healing also impact lymphocyte proliferation in vitro. **Biomedical Sciences Instrumentation**, v. 37, p. 215-20, 2001.

KAGI, D. B.; LEDERMAN, K.; BURKI, R. M. Molecular mechanisms of lymphocyte-mediated cytotoxicity and their role in immunological protection and pathogenesis in vivo. **Annual Review of Immunology**, v. 14, p. 207-232, 1996.

KAY, H.D. AND HORWITZ, D. Natural and antibody-dependent cytotoxicity of lymphocytes and monocytes. In: **Methods in Immunodiagnosis** (Eds. Rose, N.R. and Bigazzi, P.E.). Second edition, John Wiley & Sons, New York, 1980.

KELNER, M.; WELLMAN, B. Who seeks alternative health care? A profile of the users of five modes of treatment. **J. Altern Complement Med.**, v.3(2), p.127-40, 1997.

KHETAWAT, G.; FARADAY, N.; NEALEN, M. L.; VIJAYAN, K. V.; BOLTON, E.; NOGA, S. J.; BRAY, P. F. Human megakaryocytes and platelets contain the estrogen receptor beta and androgen receptor (AR): testosterone regulates AR expression. **Blood**, v. 95, n. 7, p. 2289-2296, 2000.

KIRSCH, I. Response expectancy as a determinant of experience and behavior. **American Psychologist**, v. 40, p. 1189-1202, 1985.

KNISS, D. A.; IAMS, J. D. Regulation of parturition update: endocrine and paracrine effectors of term and preterm labor. **Clinics in Perinatology**, v. 24, n.4, p. 819-36, 1998.

KOENIG, H. G. Psychoneuroimmunology and the faith factor. **JGSM.**, v.3, n.5, p.37-44, 2000.

KROPIUNIGG, U. Basics in psychoneuroimmunology. **Annals of Medicine**, v.25, p.473-79, 1993.

- KRIEGER, D. Healing by the laying-on of hands as a facilitator of bioenergetic exchange: The response of in vivo human hemoglobin. **International Journal for Psychoenergetic**, v.2, 1976.
- LACY-HULBERT, A.; METCALFE, J. C.; HESKETH, R. Biological responses to electromagnetic fields. **FASEB Journal**, v. 12, p. 395-420, 1998.
- LAFRENIERE, K. D.; MUTUS, B.; CAMERON, S.; TANNOUS, M.; GIANNOTTI, M.; ABU-ZAHRA, H.; LAUKKANEN, E. Effects of therapeutic touch on biochemical and mood indicators in women. **J Altern Complement Med.**, v.5, n.4, p.367-70, 1999.
- LANDSHMAN, N.; BLEIBERG, I. Effect of estradiol on erythropoiesis and megakaryocytopoiesis in mice. **Israel Journal Medicine Science**, v. 15, n. 2, p.140-6, 1979.
- LAROCCA, L. M.; PIANTELLI, M.; LEONE, G.; SICA, S.; TEOFILI, L.; PANICI, P. B.; SCAMBIA, G.; MANCUSO, S.; CAPELLI, A.; RANELLETTI, F. O. Type II oestrogen binding sites in acute lymphoid and myeloid leukaemias: growth inhibitory effect of oestrogen and flavonoids. **British Journal of Haematology**, v. 75, p.489-95, 1990.
- LEI, X.F.; BI, A.H.; ZHANG, Z.X.; CHENG, Z.Y. The antitumor effects of qigong-emitted external Qi and its influence on the immunologic functions of tumor-bearing mice. **J Tongji Med Univ.**, v. 11, n.4, p.253-6, 1991.
- LEVINE JD, GORDON NC, FIELDS HL. The mechanism of placebo analgesia. **Lancet**, v.2, n.8091, p.654-7, 1978.
- LIECHTY, K.W.; CHRISTENSEN, R.D. In vivo effect of interleukin-6 on cycling status of hematopoietic progenitors from adults and neonates. **Pediatr Res.**, v.28, n.4, p.323-6, 1990.
- MAESTRONI, G. J. M. Circadian rhythms and immunity: T-helper-2 cells as targets of the circadian melatonin signal. In: MARSH, J. A.; KENDALL, M.D. **The physiology of immunity**, CRC Press, p. 367-379, 1996.
- MANOLAGAS, S. C. The role of IL-6 type cytokines and their receptors in bone. **Ann N Y Acad Sci.** v. 840, p.194-204, 1998.
- MANOLAGAS, S. C.; KOUSTENI, S.; JILKA, R. L. Sex steroids and bone. **Recent Prog Horm Res.**, v.57, p. 385-409, 2002.

MASEK, K.; PETROVICKY, P.; SEVCIK, J.; ZIDEK, Z.; FRANKOVA, D. Past, present and future of psychoneuroimmunology. **Toxicology**, v.17; 142 n.3, p.179-88, 2000.

MCCANN, S. M.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; FRANCI, C. R.; ANSELMO-FRANCI, J. A.; KARANTH, S.; RETTORI, V. Role of the hypothalamic pituitary adrenal axis in the control of the response to stress and infection. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, p.1121-31, 2000.

MCEWEN, B. S.; BIRON, C. A.; BRUNSON, K. W.; BULLOCH, K.; CHAMBERS, W. H.; DHABHAR, F. S.; GOLDFARB, R. H.; KITSON, R. P.; MILLER, A. H.; SPENCER, R. L.; WEISS, J. M. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. **Brain Research Reviews**, v.23, p.79-133, 1997.

MCMURRAY, R. W.; NDEBELE, K.; HARDY, K.J.; JENKINS, J. K. 17-beta-estradiol supresses IL-2 and IL-2 receptor. **Cytokine**, v. 14, n. 6, p.324-333, 2001.

MEEHAN, R.; WHITSON, P.; SAMS, C. The role of psychoneuroendocrine factors on spaceflight-induced immunological alterations. **Journal Leukoc. Biol.**, v. 54, n. 3, p. 236-44, 1993.

MILLER, J.E.; BRAY, M.A.; FAIMAN, C.; REYES, F.I. Characterization of 24-h cortisol release in obese and non-obese hyperandrogenic women. **Gynecol Endocrinol.**, v.8, n.4, p.247-54,1994.

MOYNIHAN, J. A.; COHEN, N.; ADER, R. **Stress and immunity in neuropeptides and immunoregulation**, In: SCHARRER Berlin-Heidelberg. p.120-138.1994.

NAESER, M. A.; HAHN, K. A.; LIEBERMAN, B. E.; BRANCO, K. F. Carpal tunnel syndrome pain treated with low-level laser and microampere transcutaneous electric nerve stimulation: a controlled study. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, v.83, n. 7, p. 978-88, 2002.

NEALEN, M. L.; VIJAYAN, V.; BOLTON, E.; BRAY, P. F. Human platelets contain a glycosylated estrogen receptor beta. **Circulation Research**, v. 88, p. 438-442, 2001.

NILSSON, N.; CARLSTEN, H. Estrogen induces suppression of natural killer cell cytotoxicity and augmentation of polyclonal B cell activation. **Cell Immunol.**, v.158, n.1, p.131-9, 1994.

OLSON, M.; SNEED, N.; LAVIA, M.; VIRELLA, G.; BONADONNA, R.; MICHEL, Y. Stress-induced immunosuppression and therapeutic touch. **Altern. Ther. Health Med.**, v.3, p.68-74, 1997.

OLSON, K.; HANSON, J. Using Reiki to manage pain: a preliminary report. **Cancer Prev. Control**, v.1(2), p.108-13, 1997.

OSCHMAN, J. L. **Energy medicine – the scientific basis**. London, Churchill livingstone, 2000. 275p.

ORTALDO, J. R.; MASON, A.; OVERTON, R. Lymphokine-activated killer cells – Analysis of progenitors and effectors. **J. Exp. Med.**, v. 164, p. 1193-1205, 1986.

PASSERI, G.; GIRASOLE, G.; JILKA, R.L.; MANOLAGAS, S.C. Increased interleukin-6 production by murine bone marrow and bone cells after estrogen withdrawal. **Endocrinology**, v.133, n.2, p.822-8, 1993.

PECAUT, M. J.; SMITH, A. L.; JONES, T. A.; GRIDLEY, D. S. Modification of immunologic and hematologic variables by method of CO₂ euthanasia. **Comparative Medicine**, v. 50, n. 6, p. 595-602, 2000.

PENN, I. The occurrence of cancer in immune deficiencies. **Curr Probl Cancer.**, v.6, n.10, p.1-64, 1982.

PETRY, J. J. Surgery and complementary therapies: a review. **Altern. Ther. Health Med.**, v.6, n.5, p.64-74, 2000.

PETRY, J. J. The role of the mind and emotions of patient and surgeon in the outcome of surgery. **Plast. Reconstr. Surg.**, v.105, n.7, p.2636-7. 2000.

- PETRY, J. J. Surgery and complementary therapies: a review. **Altern. Ther. Health Med.**, v.6, n.5, p.64-74, 2000.
- POBER, J. S.; COTRAN, R. S. Immunologic interactions of T lymphocytes with vascular endothelium. **Advances in immunology**, v. 50, p. 261-302, 1991.
- POZZI, D. H. B. **Estudo in vitro sobre a ação do azul tripan e do vírus do sarampo na citotoxicidade do linfócito de camundongos HAM-ICR/CD**. São Paulo, 1982. Tese (Livre-docência) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- POZZI, D. H. B. Terapêutica clínica, biologia molecular e estudos em animais. **Diagnóstico & Tratamento**, v. 4, n.4, p.7 - 11, 1999.
- PUNG, O. J.; TUCKER, A. N.; VORE, S. J.; LUSTER, M. I. Influence of estrogen on host resistance: increased susceptibility of mice to *Listeria monocytogenes* correlates with depressed production of IL-2. **Infect. Immunity**, v. 50, p. 91-96, 1985.
- QUINN, J.F.; STRELKAUSKAS, A.J. Psychoimmunologic effects of therapeutic touch on practitioners and recently bereaved recipients: a pilot study. **Adv Nurs Sci.**, v.15, n.4, p.13-26, 1993.
- RANZINI, A.; ALLEN, A.; LAI, Y. Use of complementary medicines and therapies among obstetric patients. **Obstet Gynecol.**, v. 97, n.4(1), 2001.
- REICHLIN S. Neuroendocrine-immune interactions. **N. Engl. J. Med.**, v.329, n.17, p,1246-53, 1993.
- REITER, R. J.; CALVO, J. R.; KARBOWNIK, M.; QI, W.; TAN, D. X. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 917, p. 376-386, 2000.
- REYNAERT, C.; LIBERT, Y.; JANNE, P. “Psychogenesis” of cancer: between myths, misuses and reality. **Bull cancer**, v.87, n.9, p.655-64, 2000.
- ROBB, R.J.; MUNCK, A.; SMITH, K.A. T cell growth factor receptors. Quantitation, specificity, and biological relevance. **J Exp Med.**, v.154, n.5, p.1455-74, 1981.

ROOZENDAAL, B.; KOOLHAAS, J. M.; BOHUS, B. The role of the central amygdala in stress and adaptation. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 161, n.640, p. 51-54, 1997.

ROSENBERG, S.A.; LOTZE, M.T.; MUUL, L.M.; LEITMAN, S.; CHANG, A.E.; ETTINGHAUSEN, S.E.; MATORY, Y.L.; SKIBBER, J.M.; SHILONI, E.; VETTO, J.T. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. **N Engl J Med.**,v.313, n.23, p.1485-92, 1985.

ROSENBERG, S. A. Immunotherapy of cancer by systemic administration of lymphoid cells plus interleukin-2. **J Biol Response Mod.**, v.3, n.5, p.501-11, 1984.

ROSENMAN, R. H. Do environmental effects on human emotions cause cardiovascular disorders? **Acta Physiologica Scandinavica**, v.161, n.640, p. 133-136, 1997.

SATYA AJ. Stress management for patient and physician. **J. Indian Med. Assoc.**, v.99, n.2, p.90-2, 2001.

SAUER, J.; POLACK, E.; WIKINSKI, S.; HOLSBOER, F.; STALLA, G. K.; ARTZ, E. The glucocorticoid sensitivity of lymphocytes changes according to the activity of the HPA system. **Psychoneuroendocrinology**, v. 20, n. 3, p. 269-80, 1995.

SCHANTZ, S.P.; GOEPFERT, H. Multimodality therapy and distant metastases. The impact of natural killer cell activity. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg.**, v.113, n.11, p.1207-13, 1987.

SCHMIDT-WOLF, G. D.; NEGRIN, R. S.; SCHMIDT-WOLF, I. G. H. Activated T cells and cytokine-induced CD3+ CD56+ killer cells. **Ann Hematol.**, v.74, p. 51-56, 1997.

SCHWARZ, R.E.; VUJANOVIC, N.L.; HISERODT, J.C. Enhanced antimetastatic activity of lymphokine-activated killer cells purified and expanded by their adherence to plastic. **Cancer Res.**, v.15, n.49, p.1441-6, 1989.

SELYE, H. Stress and distress. **Compr Ther.**, v.1, n.8, p.9-13, 1975.

SETO, A.; KUSAKA, C.; NAKAZATO, S. Detection of extraordinary large biomagnetic field strength from human hand. **Acupuncture and Electro-Therapeutics Research International Journal**, v.17, p. 75-94, 1992.

SEVERS, Y.; BRENNER, I.; SHEK, P. N.; SHEPHARD, R. J. Effects of heat and intermittent exercise on leukocyte and sub-population cell counts. *European Journal Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, v. 74, n. 3, p. 234-45, 1996.

SNYDER, D. S.; UNANUE, E. R. Corticosteroids inhibit murine macrophage Ia expression and IL-1 production. **J. Immunology**, v.129, n. 5, p. 1803-05, 1982.

SOMOSY, Z. Radiation response of cell organelles. **Micron**, v. 31, p. 165-181, 2000.

STEFANO G.B., FRICCHIONE G.L., SLINGSBY B.T., BENSON H. The placebo effect and relaxation response: neural processes and their coupling to constitutive nitric oxide. **Brain Res. Rev.**, v.35, n.1, p.1-19, 2001.

STRATAKIS, C. A.; CHROUSOS, G. P. Neuroendocrinology and Pathophysiology of the stress system. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 771, p.1-17, 1995.

SULLIVAN, P. S.; JACKSON, C. W.; MCDONALD, T. P. Castration decreases thrombocytopoiesis and testosterone restores platelet production in castrated BALB/C mice: evidence that testosterone acts on a bipotential hematopoietic precursor cell. **Journal Lab. Clin. Med.**, v.125, n.3, p. 326-33, 1995.

TILLER, W. A. Subtle energies. **Science & Medicine**, p.28-33, May/June, 1999.

TOFANI, S.; BARONE, D.; CINTORINO, M.; DE SANTI, M. M.; FERRARA, A.; ORLASSINO, R.; OSSOLA, P.; PEROGLIO, F. ROLFO, K.; RONCHETTO, F. Static and ELF magnetic fields induce tumor growth inhibition and apoptosis. **Bioeletromagnetics**, v. 22, p. 419-428, 2001.

- TOUPS DM. A healing touch: massage therapy and HIV/AIDS. **STEP Perspect.** v.99, n.3, p.13-4, 1999.
- TRINCHIERI, G. Biology of natural killer cells. **Advances in Immunology**, v. 47, 1989.
- VAN DE GRIEND, R. J.; BOLHUIS, R. L. H.; STOTER, G.; ROOZEMOND, R. C. Regulation of cytolytic activity in CD3- and CD3+ killer cells clones by monoclonal antibodies depends on subclass specificity of target cell IgG-FcR. **J. Immunol.**, v. 138, p. 3137, 1987.
- VERSTEEG, R. NK cells and T cells: mirror images? **Immunology Today**, v.13, n.7, p. 244-7, 1992.
- ZHANG, X. W.; NIU, X. L.; GUO, Z. G. Estrogen induce apoptosis in mouse peritoneal macrophages. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 18, n. 3, p.267-70, 1997.
- ZHANG, W. B.; YU, W. L.; YANG, Y.J. Absence of an analgesic effect of qigong "external qi" in rats. **Am. Journal Chinese Medicine**, v. 26, n.1, p.39-46, 1998.
- ZAJCHOWSI, S.; HOFFMAN-GOETZ, L. Supraphysiological level of estrogen exposure in vivo increases lymphoid cell death in mice. **Life Science**, v. 66, n.15, p. 1451-59, 2000.
- ZIMMERMAN, J. Laying-on-of-hands healing and therapeutic touch: a testable theory. **Journal of the Bioelectromagnetics Institute**, v. 24, p. 8-17, 1990.
- WARDELL, D. W; ENGBRETSON, J. Biological correlates of Reiki Touch healing. **Journal of Advanced Nursing**, v.33, n.4, 2001.
- WHITESIDE, T.L.; HERBERMAN, R.B. The biology of human natural killer cells. **Ann Ist Super Sanita.**, v.26, n.3, p.335-48, 1990.
- WILKINSON DS, KNOX PL, CHATMAN JE, JOHNSON TL, ARBOUR N, MYLES Y, REEL A. The clinical effectiveness of healing touch. **J Altern Complement Med.**, n.8, v.1, p.33-47, 2002.

WINSTEAD-FRY, P.; KIJEK, J. An integrative review and meta-analysis of therapeutic touch research. **Altern Ther Health Med.**, v.5, n.6, p.58-67, 1999.

WIRTH, D. P.; BARRET, M. J. Complementary healing therapies. **Int. J. Psychosom.**, v.41, n.1, p.61-7, 1994.

WIRTH, D. P.; RICHARDSON, J. T.; EIDELMAN, W. S. Wound healing and complementary therapies: a review. **J. Altern. Complement. Med.**, v.2, n.4, p.493-502, 1996.

WOLF, S. Effects of suggestion and conditioning on the action of chemical agents in human subjects – The pharmacology of placebos. **Journal of Clinical Investigation**, v. 29, p. 100-109, 1950.

WONG, G. C.; CLARK, S. C. Multiple actions of IL-6 within a cytokine network. **Immunology Today**, v. 9, p. 137, 1988.

*Pois as coisas findas,
muito mais que lindas, estas ficarão...*

Carlos Drummond de Andrade