



AUTO-HEMOTERAPIA EM RATOS (*Rattus norvegicus*): EFEITO SOBRE O NÍVEL DO FATOR DE NECROSE TUMORAL (TNF-) E LEUCÓCITOS

Mirleide de Araújo Cáo¹, Tatiane Fiorotti², Henrique Jordem Venial³, Cleber Tofoli Vieira⁴, Lenir Cardoso Porfírio⁵

1. Pós-Graduanda em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (mirleidea@gmail.com)

2. Mestre em Ciências Veterinárias Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo

3. Doutor pela Universidade Federal Fluminense do Rio de Janeiro

4. Administrador. Graduando em Engenharia de Produção na Faculdade Estácio de Sá.

5. Professora Doutora do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo- Alegre – Brasil

**Recebido em: 15/05/2021 – Aprovado em: 15/06/2021 – Publicado em: 30/06/2021
DOI: 10.18677/EnciBio_2021B8**

RESUMO

Com o objetivo de empregar como tratamento a técnica de auto-hemoterapia (AH) foi identificado os níveis de proteção em animais de companhia, pela quantificação do TNF- em ratos submetidos a esta técnica. Os grupos experimentais consistiram de G1: Grupo controle e G2: Grupo AH. Com as amostras de sangue obtidas dos animais e armazenadas em tubo com anticoagulante foram utilizadas para a realização do leucograma e a determinação dos níveis de TNF- por meio do teste ELISA, com plasma sanguíneo, em três momentos. Nos resultados observou-se aumento na produção de TNF- dentro dos grupos G1 e G2 ($p < 0.05$). O número de monócitos diminuiu no M3 ($p = 0,024$) e o número de linfócitos diminuiu no M2 ($p = 0,018$) do G2. Com os dados obtidos neste trabalho, especula-se que a AH interfere significativamente nos valores de linfócitos e monócitos, após uma semana da aplicação da auto-hemoterapia.

PALAVRAS-CHAVE: auto-hemoterapia, citocina, sistema imune.

AUTOHEMOTHERAPY IN RATS (*Rattus norvegicus*): NÍVEIL EFFECT ON THE TUMOR NECROSIS FACTOR (TNF-) AND LEUKOCYTES

ABSTRACT

It was quantified TNF- to evaluate the defense system in rats submitted to autohemotherapy (AH), since it could be used as an alternative diagnostic and increase levels of protection for pets. The experimental groups consisted of G1: control group and G2: AH group. Venipuncture was performed in the animals' blood into a tube with anticoagulant to perform the WBC in three stages. The determination of TNF- was performed by ELISA using blood plasma. The results showed that there is

increased production of TNF- in the groups G1 and G2 ($p < 0.05$), after the application of (AH) and the number of monocytes decreases in the moment M3 ($p=0.024$) with a reduction in the production of lymphocytes in M2 ($p=0.018$) in G2. Based on the data obtained in this work, it is speculated that the AH, significantly interferes, significantly the values of lymphocytes and monocytes, after a week of applying auto-hemotherapy.

KEYWORDS: Cytokine; Immune system; Autohemotherapy.

INTRODUÇÃO

Auto-hemoterapia é uma técnica antiga empregada em doenças sistêmicas e de origem desconhecida. Observa-se que a técnica foi usada em humanos (BREWER, 2014) e animais (NEHRU *et al.*, 2017). Segundo Teixeira, (1940), pensava-se que o sangue extraído por punção venosa e rico em CO₂ em contato com o corpo estranho (no caso a seringa), provocaria modificações físico-químicas na estrutura da hemácia e, por isso, quando injetado no organismo, atuaria como proteína estranha, mas hoje sabe-se que a resposta celular e a resposta humoral não dependem em nada da estrutura conformacional/tridimensional da proteína, de tal modo que haveria pouco efeito sobre o sistema imune a longo prazo, mas que há um efeito estimulante das proteínas parentais sobre o sistema simpático e o parassimpático e reações vasomotoras e teciduais no organismo, assim como a ação do sistema mononuclear fagocitário estimulado pela auto-hemoterapia (BORGES *et al.*, 2014).

Para Veronesi *et al.*, (1976), um desses estímulos é o aumento do número e função de macrófagos no organismo e para Appolinário e Megid (2007), quando ativados produzem citocinas para a modulação da resposta inflamatória com ação mitógena para os timócitos, estimulando a resposta de fase aguda, proliferação e ativação de linfócitos T e B.

Dentre as citocinas de importância está o fator de necrose tumoral-alfa (TNF-) secretado pelos macrófagos, células T e B e fibroblastos, e podem agir em quase todas as células nucleadas. Quando liberado em baixas concentrações age nas células endoteliais promovendo vasodilatação e as estimulando a secretarem outro grupo de citocinas com ação quimiotática em relação aos leucócitos, promovendo processo inflamatório local que possibilita o combate a quadros infecciosos. Pode atuar de forma solúvel ou ligada à membrana. É também, um mediador de muitas funções imunes e inflamatórias, que regula o crescimento de diferentes tipos celulares (DE OLIVEIRA, *et al.* 2011).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a produção de TNF- e de células leucocitárias em ratos (*Rattus norvegicus*) linhagem Wistar, e verificar se há resposta imunológica, após o procedimento de auto-hemoterapia, quando comparada com a aplicação de soro fisiológico, após as aplicações.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi delineado como um ensaio clínico pareado e obedeceu aos princípios da Comissão de Ética no uso de animais em pesquisa, da Universidade Federal do Espírito Santo, com protocolo experimental aprovado sob o número 067 – 2012. Os animais utilizados neste experimento foram obtidos do Biotério Central, Unidade Técnica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e encaminhados ao

Biotério do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Ao todo foram utilizados 12 ratos (*Rattus norvegicus*) machos hígidos, da linhagem Wistar, com 60 dias de idade e peso em torno de 500g. Foram alocados em caixa de polipropileno com lotação média de dois animais por caixa, mantidos em temperatura de aproximadamente 21 °C a 23 °C, umidade e luminosidade controladas em foto período de 12 horas claro/escuro/por 28 dias, alimentados com ração específica e água *ad libitum*.

A eutanásia ao final do experimento, foi realizada de acordo com a Lei nº1000 de maio de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária. Aplicação de anestesia geral com Tiopental Sódico em dose letal de 100mg/kg e Hypnol a 3%, seguida de exsanguinação total.

O delineamento experimental se fez como: **Grupo 1 (Controle)** – grupo de seis animais. Cada animal, após sedação com a associação de 60 mg/Kg de cetamina e 10 mg/Kg de xilazina, tiveram o sangue coletado, por via intracardíaca.

M1: Para as análises laboratoriais antes do procedimento. Foram colhidos 0,7 mL de sangue de cada animal, separando-se 0,5 mL para o leucograma e posterior separação do plasma para dosagem de TNF- . Neste grupo, após a coleta aplicou-se 0,2 mL de soro fisiológico, via intramuscular, em cada animal.

M2: Após 8 horas da aplicação do soro fisiológico foram retirados mais 0,5 mL de sangue pela mesma via, com sedação, para nova análise do leucograma e dosagem de TNF- .

M3: Após sete dias da aplicação do soro fisiológico, os animais foram submetidos a sedação, por via intramuscular, para nova coleta de 0,5 mL de sangue, realização do leucograma, separação do plasma e verificação dos níveis de TNF- .

Grupo 2 (Autohemoterapia) – grupo de seis animais. Cada animal, após sedação com a associação de 60 a 80mg/Kg de cetamina e 8 a 15mg/Kg de xilazina, tiveram sangue coletado por via intracardíaca.

M1: Para as análises laboratoriais antes do procedimento. Foram colhidos 0,7 mL de sangue de cada animal, separando-se 0,5 mL para o leucograma e posterior separação do plasma para dosagem de TNF- . Neste grupo, após a coleta aplicou-se 0,2 mL de sangue fresco, via intramuscular em cada animal.

M2: Após 8 horas da aplicação do sangue fresco foram retirados mais 0,5 mL de sangue pela mesma via, com sedação, para nova análise do leucograma e dosagem de TNF- .

M3: Após sete dias da aplicação do sangue fresco, os animais foram submetidos a sedação por via intramuscular, para coleta de 0,5 mL de sangue, realização do leucograma, separação do plasma e verificação dos níveis de TNF- .

As análises da leucometria e da dosagem de TNF- ocorreram nos momentos M1, M2 e M3 do grupo controle (G1) e do grupo auto-hemoterapia (G2). Após a coleta, foi realizado o hemograma no equipamento Mindray® BC 2800 Vet, e posteriormente o sangue foi centrifugado em macro centrífuga sorológica marca Centribio® a 1800 g, para separação do plasma, do hemograma foram separados os valores do leucograma.

Com o plasma foram realizadas as determinações dos níveis de TNF- , em duplicata, por meio do teste ELISA (ABCAM (ab100784 TNF alfa Rat)) com sensibilidade <25pg/mL e faixa de avaliação entre 82.3 pg/mL-20000 pg/mL. As análises ocorreram segundo recomendação do fabricante e a densidade óptica foi

determinada usando leitor automático de microplacas (BIO-RAD, PW40), no comprimento de onda de 450 nm.

Para análise dos dados foi utilizado o teste estatístico não paramétrico de Kruskal –Wallis para a verificação das possíveis alterações dos níveis de TNF- para cada célula e verificação da associação entre a leucometria e níveis de TNF- . Foi utilizado ainda o teste de Wilcoxon, para a identificação da possível diferença entre os grupos controle e auto-hemoterapia. Para os testes foi utilizado o nível de 5% de probabilidade uma vez que foi verificada a não normalidade, via pós-teste de Siegel e Castellan ($p < 0,05$) dos erros amostrais.

RESULTADOS

Nos resultados obtidos na análise do leucograma observou-se que pós teste de Siegel e Castellan a 5% de significância no teste de Kruskal-Wallis, existe diferença significativa entre a produção de monócitos ($p < 0,05$) entre os momentos M1 e M3 do G2 (Auto-hemoterapia), quando diminui em número de monócitos na corrente sanguínea, em M2 ($p = 0,024$) (Fig.1). Para o número de linfócitos, observou-se uma diferença significativa ($p < 0,05$), o que demonstrou significância entre M1 e M2, com o número de linfócitos menor para o grupo M2 no G2, com $p = 0,018$ (Fig.2). Esta diferença não ocorreu com as demais células consideradas: neutrófilos ($p = 0,943$), eosinófilos ($p = 0,663$) e leucometria total ($p = 0,489$) para o G2. No G1 (Grupo controle) não se observou diferença em nenhuma das células da série leucocitária, (monócitos ($p = 0,732$), linfócitos ($p = 0,113$), neutrófilos ($p = 0,593$), eosinófilos ($p = 0,393$) nem na produção de leucócitos totais ($p = 0,174$).

Na análise dos níveis de TNF- , houve diferença significativa dentro dos grupos sendo que para o G1(Grupo controle) para o pós-teste de Siegel e Castellan ($p < 0,05$) entre M1 e M3. Para o G2 (Auto-hemoterapia) também houve diferença significativa na produção de TNF- com $p < 0,05$, considerando entre os M1 e M3. Para a análise entre os grupos (G1 e G2) da produção de TNF- foi usado o teste de Wilcoxon que mostrou diferença não significativa na produção de TNF- entre os grupos ($p = 0,651$).

DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que houve diminuição de monócitos em M3 após aplicação da auto-hemoterapia, o que segundo Chiu e Bharat (2016) as funções dos monócitos e macrófagos incluem a transformação de monócitos em células efetoras teciduais; ação fagocítica de patógenos; e regulação da resposta imune. O que explica a alteração na quantidade dessas células no leucograma entre M1 e M3 após a auto-hemoterapia, corroborando com Drumond *et al.*, (2013), que o mecanismo de ação da auto-hemoterapia é aumentar a imunidade orgânica.

Outra célula que teve importante diminuição em M2 foram os linfócitos que segundo Davis e Rothenberg (2016), as principais funções dos linfócitos incluem a imunidade humoral, imunidade celular, regulação imune, atividade citotóxica e vigilância imune e secreção de linfocinas. O que pode explicar a diminuição dessas células na corrente sanguínea em M2 após auto-hemoterapia, pois estas células possuem um fenômeno de recirculação, de suma importância biológica porque proporciona uma distribuição generalizada de células linfoides ocupadas com a resposta imune sistêmica e como resultado, grande número de linfócitos pode ser exposto a um antígeno depositado localmente no tecido (DAVIS; ROTHENBERG, 2016).

Os resultados revelaram que há aumento na produção de TNF- α , após a aplicação da auto-hemoterapia, com redução do número de monócitos em M3. Com a continuada produção de TNF- α e, como é uma citocina pró-inflamatória, o seu valor elevado estimula o aumento dos macrófagos nos tecidos, de acordo com Nosaka *et al.*, (2018) a estimulação da adesão de leucócitos ao endotélio e monócitos é uma das muitas atividades do TNF- α , com ações semelhantes à IL-1, sendo mediador na defesa anti-humoral e anti-viral (VARELLA; FORTE, 2001).

Segundo Zhao *et al.*, (2008) os macrófagos são células secretoras multifuncionais do sistema imune que participam da regulação da resposta imunológica, pela liberação de mediadores químicos, frente a um estímulo apropriado. Pode-se então explicar o mecanismo de ação da auto-hemoterapia, agindo como imunostimulador e a interação com o sistema imune.

O TNF- α , regula as citocinas pró-inflamatórias, como as interleucinas (IL-1, IL-6 IL-8), principalmente a secreção e modulação da IL-1 e o fator de estimulação de colônia de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) (AGUIAR; MELLO, 2019; MEHTA, *et al.*; 2020). A IL-1, TNF- α e IFN- γ estimulam a produção de quimiocinas e moléculas de adesão, recrutando mais células inflamatórias da corrente sanguínea e criam condições para amplificação da cascata inflamatória (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011). Sabendo disso, tem-se mais uma alternativa para a resposta de diminuição de monócitos apresentada em M3 inversamente aos valores de TNF- α , no mesmo momento, modulando a resposta inata.

Os linfócitos são outras células que declinam na leucometria e como comentou Vizoni *et al.*, (2008) as citocinas têm importante papel na comunicação celular e influenciam no crescimento e diferenciação de linfócitos, esse aumento de TNF- α , juntamente com outras citocinas, principalmente a IL-1, estimulem a diferenciação e os retirem da corrente sanguínea, visto que as citocinas são elementos essenciais no controle da resposta imune, regulam a magnitude e natureza destas respostas, como também novos receptores na superfície das células. Para Mehta (2020) a produção de TNF- α e IL-1 promovem a liberação sistêmica de IL-6, e amplificam a resposta inflamatória, portanto, uma explicação para o declínio dessas células na corrente sanguínea.

O excesso de TNF- α pode levar a sérias consequências (CATANZARO *et al.*, 2020). Altas concentrações de TNF no sangue de pacientes com septicemias estão relacionadas com a piora do prognóstico. O TNF- α , mesmo na ausência de bactérias, leva a quadro semelhante ao choque séptico, sugerindo importante ação destrutiva quando sintetizado em quantidades excessivas (AITKEN *et al.*, 2011).

Como há o aumento de TNF- α , nos momentos iniciais, de forma branda, indica que atue estimulando e modulando a resposta inata, mas em M3, este continua a aumentar, mesmo com a diminuição na leucometria total, contudo, sabe-se que o excesso pode levar a piora do prognóstico dos pacientes segundo Catanzaro *et al.*, (2020), mas este fato não tem sido relatado em estudos feitos com pacientes que utilizaram a auto-hemoterapia como tratamento.

Neste sentido, a expressão de TNF- α pela aplicação da auto-hemoterapia, estimula as células da resposta inata, principalmente monócitos e linfócitos. Buscou-se evidenciar que a técnica empregada em várias áreas clínicas produz a imunostimulação na produção de TNF- α , visto que macrófagos e monócitos participam

ativamente no processo de produção e na fagocitose de células infectadas. (AGUIAR; MELLO, 2019). Para Sheikhi *et al.*, (2014), por exemplo, a auto-hemoterapia representa um novo método para tratamento e cura da urticária crônica, pela auto-negativação de anticorpos, atuando como auto-vacina ao estimular o sistema auto-imune.

Para Staubach *et al.*, (2006) a auto-hemoterapia, é promissora e potencialmente curativa e mais uma opção terapêutica, além de seguro, outro exemplo descrito por Kocaturk *et al.*, (2012) de pacientes que apresentavam urticária tiveram melhora significativa na sua qualidade de vida, além da diminuição do uso de anti-histamínicos e segundo Hu *et al.*, (2018) seus processos resultam em estimulação dos sistemas imunitários e maior cura dos pacientes.

A auto-hemoterapia pode ser empregada como alternativa para contribuir com a imunogenicidade e aumento dos níveis de proteção em animais de companhia. De acordo com Mondo *et al.*, (2014) como resultado a auto-hemoterapia tem nítida eficácia no tratamento de algumas das patologias persistentes estudadas, tais como a gengivite e a imunossupressão, e como auxiliar na cicatrização das feridas causadas pela dermatite atópica, não demonstrando ser causadora de qualquer efeito adverso para os indivíduos a ela submetidos, e apresentaram-se menos suscetíveis a infecções. Vale ressaltar que de acordo com os resultados obtidos é de suma importância a dosagem de outras citocinas, como a IL-1 e IL-6, levando em consideração a modulação da IL-1 exercida pelo TNF- α , e a função anti-inflamatória da IL-6, pois pode inibir grandes excessos de TNF- α , ao influenciar de forma positiva a estimulação da produção do TNF- α , pela auto-hemoterapia. Sugere-se também que o local de aplicação seja avaliado, por meio de técnicas histopatológicas a fim de observar se há aumento do número de macrófagos na região de aplicação. Por isso são importantes estudos que mostrem os efeitos dessa técnica sobre a resposta imune nos animais.

CONCLUSÕES

Houve efeito da auto-hemoterapia no número de monócitos e linfócitos na corrente sanguínea.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, F. S.; MELLO, F. C. Q. Latent tuberculosis and the use of immunomodulatory agents. **Journal Brazilian Pneumology**, 2019;45(6):e20190361. <https://doi.org/10.1590/1806-3713/e20190361>

APPOLINÁRIO, C.M.; MEGID, J. Uso de imunomoduladores nas enfermidades infecciosas dos animais domésticos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n. 3, p. 437-448, jul./set. 2007. <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744085008.pdf>

AITKEN, S. L.; CORL, C. M.; SORDILLO, L. M. Pro-inflammatory and pro-apoptotic responses of TNF-alpha stimulated bovine mammary endothelial cells. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 140, p. 282–90, 2011. DOI: 10.1016/j.vetimm.2011.01.016

CHIU, S.; BHARAT, A. Role of monocytes and macrophages in regulating immune response following lung transplantation. **Current Opinion in Organ Transplantation**, 2016;21(3):239-245. doi:10.1097/MOT.0000000000000313

BORGES, O.M.M.; DA SILVA, R.M.N.; MENDES, R.S.; DE SOUZA, A.P. Auto-hemoterapia, uma nova ou antiga alternativa terapêutica? Revisão de literatura. **Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**;12(39); 32-40, 2014. <https://medvep.com.br/wp-content/uploads/2020/11/Auto-hemoterapia-uma-nova-ou-antiga-alternativa-terapeutica.pdf>

BREWER, D. D. A Systematic Review of Autohemotherapy as a Treatment for Urticaria and Eczema. **Cureus** 6(12): e233. 2014. DOI 10.7759/cureus.233

CATANZARO, M.; FAGIANI, F.; RACCHI, M.; CORSINI, E.; GOVONI, S. et al. Immune response in COVID-19: addressing a pharmacological challenge by targeting pathways triggered by SARS-CoV-2. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, 5, 84 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0191-1>

DAVIS, B. P.; ROTHENBERG, M. E. 5 - Inflammatory and Effector Cells/Cell Migration. **Pediatric Allergy: Principles and Practice (Third Edition)**, Elsevier,2016. Pages 41-53.e4. ISBN 9780323298759. DOI: 10.1016 / B978-0-323-29875-9.00005-7
DE OLIVEIRA, C. M. B.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M., GEROLA, L. R.; SALOMÃO R. Citocinas e dor: Artigo de Revisão. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. 61 (2): 255-265. Campinas Mar./Apr. 2011. <https://doi.org/10.1590/S0034-70942011000200014>

DRUMOND, K.O.; QUESSADA, SILVA A.M.; SILVA, S. M. M. S.; COSTA, F. A. L., SILVA, L. S. et al. Transmissible venereal tumor treated with autohemotherapy. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.41, p.1107, 2013. ISSN 1679-9216. <https://www.researchgate.net/publication/289399660.843p>

HU, B.; ZHENG, J.; LIU, Q; YANG. Y.; ZHANG, Y. The effect and safety of ozone autohemotherapy combined with pharmacological therapy in postherpetic neuralgia. **Journal of Pain Research**, 11 1637–1643, 2018.. <http://dx.doi.org/10.2147/JPR.S154154>

KOCATÜRK E.; SELIN AKTA S.; TÜRKO LU Z.; KAVALA M.; ZINDANCI I. et.al. Injeções autólogas de sangue total e soro autólogo são igualmente eficazes como injeções de placebo na redução da atividade da doença em pacientes com urticária espontânea crônica: um estudo randomizado, simples-cego controlado por placebo. **Journal of Dermatological Treatment**. Dec/2012; 23 (6): 465-71. doi: 10.3109 / 09546634.2011.593485

MEHTA, P.; PORTER, J. C.; MANSON, J. J.; ISAACS, J. D.; OPENSHAW, P. J., et al. Therapeutic blockade of granulocyte macrophage colony-stimulating factor in COVID-19-associated hyperinflammation: challenges and opportunities. **The Lancet**

Respiratory Medicine. Published: Jun/2020, v. 8, ISSUE 8, P822-830, AUG/2020. DOI:[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30267-8](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30267-8)

MONDO, N. D.; BASTOS, C. A.; CARVALHO, W. Auto-hemoterapia como alternativa no tratamento de cães portadores de patologias persistentes após terapêutica convencional. Relatos de caso - Ciências Veterinárias. **Revista Multidisciplinar da Saúde** - Ano VI - n. 10 - 2014. <https://revistas.anchieta.br/index.php/RevistaMultiSaude/article/view/990/874>

NEHRU, P. A.; SUNANDHADEVI, S.; RAMA, T.; MUNIYAPPAN, N. Efficacy of auto-hemotherapy in bovine teat papillomatosis: A case report (Article). **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v.5, Issue 8, p.350-351, 2017. DOI: 10.17582/journal.aavs/2017/5.8.350.351

NOSAKA, M.; ISHIDA Y.; KIMURA, A.; KUNINAKA Y.; TARUYA A., et al. Contribution of the TNF- (Tumor Necrosis Factor-)–TNF-Rp55 (Tumor Necrosis Factor Receptor p55) Axis in the Resolution of Venous Thrombus. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.38, Issue 11, Nov/2018; Pages 2638-2650. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.311194>

SHEIKHI A.; AZARBEIG M.; KARIMI H. Auto-hemoterapia na urticária crônica: quais seriam os fatores autorreativos e os mecanismos curativos? **Annals of Dermatology**. 26 (4): 526-527. ago/2014. doi: 10.5021 / ad.2014.26.4.526

STAUBACH, P.; ONNEN K.; VONEND A.; METZ M.; SIEBENHAAR F. et al. Autologous whole blood injections to patients with chronic urticaria and a positive autologous serum skin test: A placebo-controlled trial. **Dermatology**. v.212, p. 150–159, 2006. Pharmacology and Treatment. DOI: 10.1159 / 000090656

TEIXEIRA, J. Complicações pulmonares pós-operatórias. **Brasil-Cirúrgico**. v.2, n.3, p. 213–230, 1940. https://drive.google.com/file/d/0B_JFzljWgNdN2NmNjU4NzItNWm3MS00MjliLTg2MWMtZTEzZDI4YjM4NjAw/view

VARELLA, P.P.V.; FORTE, W.C.N. Citocinas: a revisão. **Revista Brasileira de alergia e imunopatologia**. v.24, n.4, p.146-154, 2001. Http: <http://www.sbai.org.br/revistas/Vol244/citocinas.htm>

VERONESI R. Imunoterapia: O impacto médico do século. **Medicina de Hoje**. mar/1976, 9p. http://www.rnsites.com.br/artigo_ricardo_veronese.pdf

VIZONI, S.L.; LIEBER, S.R.; DE SOUZA C. A.; SELL, A. M.; VISENTAINER, J. E. L. Role of cytokines in the immunopathogenesis of Graft-versus-Host Disease. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.30, n.2, p.142-152, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842008000200013>

ZHAO, Z. Z.; SUGERMAN, P.B.; ZHOU, X. J.; WALSH, L. J.; SAVAGE, N. W. Mast cell degranulation and the role of T cell Rantes in oral lichen planus. **Oral Diseases**, v.7, n.4, p.246-251, 2008. <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2001.70408.x>